



УДК 575.113:547.963.32

И. С. Губенко

## «НЕОБЫЧНЫЕ» ЛОКУСЫ ГЕНОМА ДРОЗОФИЛЫ, АКТИВИРУЕМЫЕ ПРИ ТЕПЛОВОМ ШОКЕ И В ДРУГИХ УСЛОВИЯХ СТРЕССА

*Рассмотрены основные особенности организации уникальных генетических локусов теплового шока (ТШ), которые высокоактивны в условиях стресса, но не кодируют известных белков ТШ. Обсуждаются возможные функции этих локусов ТШ.*

Развитие представлений о структуре и способах регуляции активности генома эукариот в значительной степени связано с изучением организации генов, функционирующих в условиях теплового шока (ТШ). Реакция клетки на ТШ сопровождается коренными изменениями активности всего генома: на фоне резкого уменьшения экспрессии ткане- и стадие-специфических генов происходит усиленная индукция специфической активности ограниченного числа хромосомных локусов [1, 2]. В политенных хромосомах клеток слюнных желез личинок разных видов дрозофилы при ТШ можно наблюдать появление определенного набора пуфов (деконденсированных участков хромосом с высокой интенсивностью транскрипции), которые индуцируются легко, одновременно и согласованно [3—12]. Пуфы ТШ активируются уже через 1—2 мин после начала шока, достигают максимальных размеров через 20—30 мин, а через 50—60 мин наблюдается их регрессия независимо от того, продолжается ТШ или особи переносятся в условия нормальной температуры [9]. В пуфах ТШ находятся локусы генов, усиленно вырабатывающих РНК ТШ, которая затем поступает в цитоплазму, связывается там с полисомами и служит матрицей для синтеза так называемых белков ТШ (БТШ) [13—16]. Гены БТШ, изученные у разных видов эукариот, оказались на редкость консервативными структурными элементами генома [1, 2]. У *Drosophila melanogaster* локусы генов, кодирующих синтез основных известных БТШ с молекулярными массами 83 000, 70 000, 68 000, 28 000, 26 000, 23 000 и 22 000, расположены в политенных хромосомах клеток слюнных желез в районах (по карте [17]) 63BC (ген БТШ 83), 87A и 87C (гены БТШ 70), 95D (ген БТШ 68) и 67B (кластер генов БТШ 28, БТШ 26, БТШ 23 и БТШ 22). Все эти гены клонированы; исчерпывающе изучены особенности их экспрессии при нормальной и повышенной температурах, организация кодирующих последовательностей и участков ДНК, ответственных за регуляцию процессов транскрипции и трансляции при ТШ [2, 9, 18].

Наряду с индукцией пуфинга в перечисленных выше районах политенных хромосом при ТШ происходит одновременная активация еще одного локуса *D. melanogaster* в районе 93D. Один из самых крупных в геноме, пуф 93D, обладает исключительными свойствами: он может возникать при определенных воздействиях независимо от других пуфов ТШ; имеет необычную структурную организацию; транскрипты этого локуса преимущественно остаются в ядре и не транслируются в цитоплазме [9, 19, 20]. Последняя особенность является самой характер-

ной и существенной: локус ТШ 93D не кодирует ни одного из известных белков, синтезируемых в условиях ТШ.

Тем не менее эквиваленты этого «необычного» пуфа ТШ *D. melanogaster*, так называемые 93D-подобные пуфы, обнаружены у всех изученных видов дрозофилы: 2-48B у *D. hydei* и гомологичные ему пуфы у *D. neohydei* и *D. eohydei* [21], 20CD у *D. virilis* и соответствующие пуфы у гомосеквентных видов группы «virilis» *D. texana*, *D. littoralis*, *D. lummei*, *D. montana*, *D. novamexicana* [10], 2R-48A у *D. nasuta*, 2L-2C у *D. ananassae*, E-11B у *D. kikkawai*, 2-58C у *D. pseudoobscura* [22], 42C у *D. auraria* [12] и др. 93D-подобные пуфы представлены в геноме клетки в единственном числе, но являются обязательным компонентом характерного набора пуфов ТШ каждого вида дрозофилы: 63BC, 67B, 87A и 87C, 93D\*, 95D у *D. melanogaster* [9], 2-32A, 2-36A, 2-48B\*, 4-81B, 4-85B у *D. hydei* [5, 7], 20CD\*, 20F, 29C, 33F, 37E у *D. virilis* [10]. 93D и цитологически гомологичные ему пуфы 2-48B *D. hydei* и 20CD *D. virilis* (отмечены звездочкой) относятся к числу наиболее изученных «необычных» пуфов дрозофилы.

Функциональное значение 93D-подобных локусов ТШ в геноме дрозофилы до сих пор остается неизвестным. Тем не менее все настойчивее становятся попытки выяснить особенности их структурной и молекулярно-генетической организации, способы их участия в процессах регуляции активности генома, в эволюции различных видов дрозофилы. Уже сейчас совершенно очевидно, что «необычные» пуфы — один из уникальных типов структурно-функциональной организации генетического материала в хромосомах эукариот.

**Специфическая индукция** как характерная особенность «необычных» пуфов ТШ неоднократно подчеркивалась во всех сводках, отражающих специфичность действия различного рода агентов на пуфинг у дрозофилы [2, 9]: пуфы в районах 93D *D. melanogaster*, 2-48B *D. hydei* и 20CD *D. virilis* могут индуцироваться независимо от остальных пуфов ТШ. Уровень их активности значительно варьирует при различных экспериментальных воздействиях и даже в ходе нормального развития. Известно, что пуф 93D *D. melanogaster* развивается на определенных стадиях последнего личиночного возраста [8], а 2-48B *D. hydei* [6] и 20CD *D. virilis* [23] тоже относятся к числу стадийспецифических и экдизон-стимулируемых пуфов. 93D является «средовым» пуфом, единственным крупным пуфом политенных хромосом *D. melanogaster*, возникающим при инкубации изолированных слюнных желез в среде Грейса [14], и претерпевает различные модификации в среде Рилгера и Пола [24].

Реакция «необычных» локусов ТШ на повышение температуры также уникальна. Максимальные размеры пуфа 93D достигаются при более низких температурах, чем те, которые необходимы для индукции пуфов ТШ в районах 87A и 87C [24]. Пуф 20CD *D. virilis* приобретает огромные размеры в условиях длительной 6—12-часовой инкубации личинок при 37 °C и сохраняется даже после 24—48-часовой тепловой обработки, когда заметны уже необратимые признаки деградации политенных хромосом и включение Н<sup>3</sup>-уридина в области пуфа полностью отсутствует [10]. После 45-минутной обработки изолированных слюнных желез *D. melanogaster* гомогенатами клеток слюнных желез, подвергнутых ТШ, индуцируется единственный пуф в 93D; последующий ТШ приводит к активации в хромосомах всех других пуфов ТШ, а активность пуфа 93D, регистрируемая по интенсивности включения Н<sup>3</sup>-уридина, оказывается значительно ниже, чем в условиях инкубации желез с гомогенатами до шока [25]. Индукция активности пуфа 2-48B полностью отсутствует в клетках слюнных желез *D. hydei*, обработанных гомогенатами «нагретых» до 37 °C клеток, в то время как способность к формированию пуфа 93D в хромосомах *D. melanogaster* не исчезает даже при инкубации желез с гомогенатами клеток, подвергнутых «жесткому» ТШ при 100 °C. Гомогенаты гетерологичных «нагретых» клеток лишены способности индуцировать пуф 93D и подобные

ему пуфы других видов дрозофилы [26], и поэтому можно предположить, что факторы, ответственные за индукцию активности «необычных» пуфов у разных видов дрозофилы, различны.

Усиленная селективная индукция пуфа *93D D. melanogaster* гомогенатами клеток желез, подвергнутых ТШ, сравнима с эффектом кратковременного действия на изолированные слюнные железы бензамида — агента, снижающего общий синтез ядерной РНК [24]. ТШ в присутствии бензамида приводит к индукции всех пуфов ТШ *D. melanogaster*, но интенсивность включения  $H^3$ -уридина в области формирующихся пуфов, в том числе и в *93D*, ниже, чем при ТШ без бензамида, а относительная активность пуфа *87A* в 6—7 раз выше, чем соседнего пуфа *87C*, хотя оба они содержат копии одного и того же структурного гена ТШ, кодирующего синтез БТШ 70, и одинаково интенсивно метятся в условиях ТШ в отсутствие бензамида. Таким образом, обработка бензамидом, который сам по себе вызывает индукцию только пуфа *93D*, изменяет общую чувствительность других пуфов ТШ. Эти факты позволяют предположить [24], что локус *93D* включается в регуляцию процессов транскрипции и трансляции, характерных для ТШ.

При выходе из состояния аноксии при 25 °С у *D. melanogaster*, как известно [9], формируется весь набор пуфов ТШ. Однако пуф *93D* полностью отсутствует, если клетки начинают восстановительный период при 37 °С: сочетание аноксии и ТШ ингибирует активность *93D*, но не подавляет индукции остальных пуфов ТШ [27].

Специфическая активация пуфа *20CD D. virilis* обнаружена при инкубации личинок в среде, содержащей митокластический агент колхицин [10]. У *D. melanogaster 93D* также является единственным пуфом, возникающим при действии колхицина на изолированные слюнные железы [28], причем при инкубации желез в среде с колхицином в условиях ТШ в районе *93D* индуцируется пуф гораздо меньших размеров.

Действительно, при совместном использовании двух индуцирующих агентов (колхицин+ТШ, аноксия+ТШ, бензамид+ТШ), применяемых одновременно или последовательно, уровень активности пуфа *93D* значительно ниже, чем при действии каждого в отдельности, а иногда пуф вообще не индуцируется [24, 27, 28].

Значительная активация или регрессия пуфа в районе *2-48BC D. hydei* неоднократно наблюдалась при использовании агентов, влияющих на процессы клеточного дыхательного метаболизма [29, 30]: размеры пуфа в ряде случаев обнаруживали положительную корреляцию с уровнем активности некоторых митохондриальных ферментов.

Индукция пуфа *2-48BC* происходит в присутствии витамина  $B_6$  и в максимальной степени — при действии его производного пиридоксальфосфата, который является простетической группой трансаминаз и других ферментов, катализирующих реакции, протекающие с участием  $\alpha$ -аминокислот [31]. В опытах на *D. hydei* было также обнаружено, что активность пуфа *2-48B* можно регулировать, изменяя концентрацию тирозина. При этом резко усиливается активность фермента тирозинаминотрансферазы (ТАТ) в условиях специфической индукции пуфа [32—34]. Поэтому было высказано предположение [7], что в районе *2-48BC* могут синтезироваться мРНК для субъединиц фермента ТАТ, коферментом которого является витамин  $B_6$ . Однако это и другие предположения о связи индукции «необычных» пуфов с уровнем активности определенных ферментов (например, пуфа *93D D. melanogaster* с синтезом субъединиц глутаминсинтетазы [35]) не подтвердились. Витамин  $B_6$  является также специфическим индуктором пуфа *20CD D. virilis*: максимально большие размеры пуфа длительно сохраняются при выдерживании в среде с витамином  $B_6$  интактных личинок или изолированных слюнных желез. Резкое увеличение размеров пуфа сопровождается активным включением  $H^3$ -уридина в районе *20CD* [10]. У *D. melanogaster* не обнаружены локусы хромосом, чувствительные к витамину  $B_6$  [36].

Избирательная индукция является, таким образом, общим характерным способом активации «необычных» пуфов ТШ в ходе онтогенеза, при ТШ или в других особых условиях культивирования; набор агентов, индуцирующих пуфы, может быть достаточно специфичен для хромосом разных видов дрозофилы.

**Структурная организация.** Уникальной особенностью организации «необычных» локусов ТШ на субмикроскопическом уровне является формирование в области пуфа РНК-протеидных гранул и крупных скоплений этих гранул. Свифт [37] впервые описал такие РНП-комплексы как специфический продукт, характерный для пуфа на дистальном конце хромосомы 2 у *D. virilis* (район 20CD по карте [38]). Позже Берендесом и др. [7, 31, 39, 40] была подробно изучена ультраструктура сложного «многодискового» пуфа 2-48BC у *D. hydei*. В этом районе хромосомы 2 имеются пять тонких дисков, ограниченных двумя группами плотных дисков. Через 3 мин после начала ТШ все пять дисков невозможно обнаружить ни в световом, ни в электронном микроскопе: видны лишь отдельные скопления уплотненного хроматина, расположенные по всей области пуфа. Еще через 2—5 мин деспирализация заканчивается, и пуф представлен параллельно расположенными растянутыми нитями, которые по всей длине покрываются гранулами (30—40 нм) РНП. В проксимальной части пуфа начинается образование крупных агрегатов гранул, имеющих размеры 0,1—0,3 мкм в диаметре и представляющих собой уникальный продукт этого пуфа. Через 30 мин после начала ТШ скопления гранул распределены уже по всей зоне пуфа [7]. Еще более четко процесс формирования сложных РНП-комплексов выражен при индукции пуфа витамином B<sub>6</sub>, когда пуф в районе 2-48BC имеет более значительные, чем при ТШ, размеры, является единственным максимально развитым пуфом политенных хромосом клеток слюнных желез в условиях индукции *in vivo* и *in vitro* [39] и содержит уникальные гранулярные частицы (25—32 нм), образующие устойчивые комплексы 0,1—0,3 мкм в диаметре. Число таких комплексов пропорционально величине индуцированного пуфа [36]. Такие сверхгранулы состоят из центральной части — электронно-плотного остова, на поверхности которого находятся гранулы с меньшей электронной плотностью. Цитохимический анализ позволил установить, что центральная белковая часть не содержит РНК, в то время как окружающие ее частицы состоят из РНК и белка, причем белки глобул и матрикса существенно различаются по аминокислотному составу [40]. Типичные РНП-комплексы, характерные для пуфа 2-48BC в политенных хромосомах клеток слюнных желез, обнаружены при электронно-микроскопическом анализе в ядрах клеток различных тканей личинок, обработанных витамином B<sub>6</sub>. Число таких РНП-частиц в ядрах клеток из отростков желудка, имагинальных дисков и эмбриональных клеток в культуре пропорционально уровню политении хромосом в ядрах соответствующих клеток [36]. Мелкие гранулы (около 30 нм в диаметре) и крупные (около 0,3 мкм) комплексы РНП-частиц, обнаруженные первоначально в пуфах 20CD *D. virilis* [37] и 2-48BC *D. hydei* [7, 36, 40], удалось наблюдать и у *D. melanogaster* [41]: число их в области 93D значительно увеличивается после индукции пуфа в условиях ТШ. Гигантские РНП-комплексы иногда присутствуют в свободном состоянии в нуклеоплазме, но не встречаются вне ядра. Подобные ультраструктуры не найдены в других районах хромосом; например, их нет в пуфах ТШ 87A и 87C. Сложные РНП-частицы находятся, по-видимому, только в пуфе 93D [41].

У *D. melanogaster* составной частью гигантских РНП-комплексов является специфический лишь для пуфа 93D ядерный РНП-антиген, P11 [42], который распознается путем непрямо́й иммунофлюоресценции моноклональным антителом против хромосомного белка с молекулярной массой 38 000 [41]. При ТШ наблюдается перераспределение P11 из малых гранул в скопления гигантских размеров. При 29 и 33 °С антиген P11 обнаруживается в сверхгранулах промежуточных размеров,

а после ТШ при 37 °С входит в состав сложных ядерных РНП-комплексов, которые наряду с другими РНК содержат транскрипты пуфа 93D. Дангли и др. [41] полагают, что антиген P11 связан со специфическим классом РНП, которые выполняют функцию хранения первичных продуктов транскрипции внутри ядра. Это свойство, по-видимому, может быть присуще не только пуфу 93D *D. melanogaster*, но и «необычным» пуфам *D. virilis* и *D. hydei*, структурная организация которых, насколько об этом можно судить на основании ультраструктуры РНП-комплексов, сходна, если не тождественна.

**Метаболизм РНК.** Районы политенных хромосом, в которых при ТШ и в других условиях стресса формируются пуфы ТШ, характеризуются очень высоким уровнем транскрипционной активности [2, 9]. Тем не менее район 93D у *D. melanogaster*, где индуцируется один из самых крупных пуфов ТШ, не гибридизуется специфически ни с одной из обнаруживаемых с помощью электрофореза в полиакриламидном геле фракций поли(А)+РНК ТШ. С этими фракциями цитоплазматической РНК ТШ строго гибридизуются другие крупные пуфы ТШ [4, 15]. Однако поли(А)-РНК и суммарная РНК имагинальных дисков, меченные в условиях ТШ, четко комплементарны последовательностям пуфа 93D [14]. Лянкель и др. [43] пытались выяснить природу и судьбу огромного количества РНК, синтезируемой в пуфе ТШ 93D. Они использовали количественный автордиографический анализ результатов гибридизации с политенными хромосомами *in situ* различных фракций РНК, выделенной из клеток *D. melanogaster* в культуре, а также ДНК рекомбинантных плазмид для идентификации РНК, комплементарной последовательностям локуса 93D во фракциях ядерной и цитоплазматической РНК. При этом сравнивали особенности метаболизма при ТШ транскриптов из пуфа 93D и из пуфа 87A, который содержит гены, кодирующие БТШ 70. Самый высокий уровень гибридизации *in situ* в районе 93D достигается при использовании фракций поли(А)- ядерной РНК. Лишь очень незначительное количество цитоплазматической поли(А)+РНК комплементарно локусу 93D. В опытах по гибридизационному насыщению установлено, что некоторая часть последовательностей, транскрибируемых в локусе 93D, не выходит из ядра: при ТШ их количество в ядерной РНК намного больше, чем в цитоплазматической. Дополнительные доказательства этому были получены в опытах по гибридизации *in situ* в условиях конкурентной гибридизации меченых фракций поли(А)+ и поли(А)- ядерной РНК с локусами 93D, 87A и 87C в присутствии увеличивающихся количеств немеченой цитоплазматической РНК. Цитоплазматическая поли(А)+РНК вытесняет лишь незначительную фракцию ядерной Н<sup>3</sup>-РНК (и поли(А)<sup>+</sup>, и поли(А)<sup>-</sup>), гибридизующихся с 93D. Немеченая поли(А)- цитоплазматическая РНК вытесняет около 28 % специфических для 93D последовательностей ядерной РНК. Результаты опытов по насыщению и конкурентной гибридизации, таким образом, позволяют предположить, что значительная часть последовательностей ядерной РНК, комплементарной 93D, присутствует лишь в небольших количествах во фракции поли(А)+РНК. РНК локуса 93D обнаруживается как в поли(А)<sup>-</sup>, так и в поли(А)<sup>+</sup> фракциях. Около 60 % поли(А)<sup>-</sup> и поли(А)<sup>+</sup>РНК остаются в ядре и лишь незначительное количество РНК присутствует в цитоплазме. В то время как большинство транскриптов из 87A обнаруживается и в поли(А)<sup>+</sup>, и в поли(А)<sup>-</sup> фракциях цитоплазматической РНК, транскрипты из 93D, присутствующие в цитоплазме, являются почти исключительно поли(А)-РНК. Значительная часть последовательностей РНК, транскрибируемых при 35 °С в пуфе 93D, в цитоплазму не попадает, тогда как РНК из пуфа 87A сконцентрирована в цитоплазматической фракции. Транскрипты двух пуфов ТШ *D. melanogaster* 87A и 93D обнаруживают, таким образом, различные способы метаболизма [43]. Методом непрямой иммунофлуоресценции установлено, что концентрация РНК-полимеразы II в районе 93D после повышения температуры с 25 до 37 °С заметно ниже, чем в пуфах ТШ 87A и 87C [44].

Пуф 2-48BC по характеру транскрипции также отличается от других локусов ТШ *D. hydei* [45, 46]. Бисселингу и др. [47] удалось получить РНК непосредственно из района 2-48BC: он расположен на дистальном конце хромосомы 2, и это позволяет сравнительно легко выделить пуф путем микродиссекции. В изолированном пуфе 2-48BC обнаружены две фракции 40S и 16S РНК, которые присутствуют также в ядерном соке, если пуф развит. 40S РНК является крупным продуктом транскрипции локуса 2-48B. Ядерный транскрипт, представленный 40S РНК, содержит поли(А) последовательности [46], в то время как соответствующий ядерный транскрипт пуфа 93D *D. melanogaster* можно обнаружить как в поли(А)<sup>+</sup>, так и в поли(А)<sup>-</sup> фракциях РНК [43]. Ядерная РНК, выделенная из клеток *D. hydei* в культуре при 37 °С, гибридизуется *in situ* с районом 2-48BC в пять раз интенсивнее, чем полисомная РНК локуса 2-48BC, полученная из тех же клеток: часть синтезированной в пуфе РНК не доходит до полисом. Добавление избыточных количеств немеченой РНК из полисомной фракции уменьшает число зерен серебра над районом 2-48BC не более чем на 20 %, и это свидетельствует о том, что ядерная РНК из пуфа содержит последовательности, которых нет в цитоплазматической РНК из этого локуса [45, 46]. В полисомной фракции обнаружена 15S РНК, комплементарная локусу 2-48BC, но неизвестно, являются ли изолированные из пуфа 40S и 16S РНК [47] ее предшественниками. Кроме того, было высказано предположение [7], что в пуфе 2-48BC транскрибируются стабильные малые 4S РНК, которые, по-видимому, повторены [45, 46]. Гетерогенность РНК пуфа 2-48BC, как полагают [48], хорошо согласуется с представлением об участии нескольких дисков этого сложного многодискового пуфа в транскрипции. Общей особенностью метаболизма РНК двух необычных пуфов ТШ 93D *D. melanogaster* и 2-48BC *D. hydei* является, таким образом, локализация большей части синтезируемой в них РНК в ядре, в то время как РНК из этих пуфов присутствует в цитоплазме в незначительных количествах. Активация всех пуфов ТШ происходит одновременно и согласованно, однако совершенно очевидно, что экспрессия генов 93D-подобных районов хромосом может дифференциально регулироваться на посттранскрипционном уровне, в том числе в ходе транспорта РНК в цитоплазму и распределения транскриптов в ядре и цитоплазме.

**Отсутствие продуктов трансляции.** Несмотря на высокий уровень транскрипционной активности «необычных» пуфов, кодирующая функция транскрибируемой при ТШ РНК 93D-подобных локусов до сих пор не установлена: гены, ответственные за синтез известных БТШ [13] картированы у *D. melanogaster*, как уже упоминалось, в других хромосомных локусах ТШ [2, 9].

Лакхотия и Мукхерджи [20] не смогли обнаружить новых продуктов трансляции даже на фоне резкого увеличения специфической транскрипционной активности пуфа 93D [24] после инкубации изолированных слюнных желез с гомогенатами клеток слюнных желез, подвергнутых ТШ, или при выдерживании желез в среде с бензамидом. Электрофоретический анализ белков в полиакриламидном геле не выявил при таких воздействиях никаких новых фракций С<sup>14</sup>-меченных полипептидов, связанных с усиленной транскрипцией РНК ТШ в пуфе 93D, по сравнению с набором белков, характерным для слюнных желез *D. melanogaster* в условиях ТШ: огромное количество РНК, поставляемое пуфом 93D, по-видимому, не транслируется на протяжении 50—70 мин индукции активности этого пуфа бензамидом или гомогенатами, включая 30-минутный период инкубации желез в присутствии меченых аминокислот [20]. Отсутствие изменений характера синтеза белка в этих условиях и другие факты, свидетельствующие о наличии среди транскриптов 93D значительной фракции поли(А)<sup>-</sup>РНК ТШ, необычном распределении синтезируемой в пуфе РНК ТШ в ядре и цитоплазме, дают основание считать, что транскрипты локуса ТШ 93D могут не иметь кодирующей функции и не участвовать в процессах трансляции при ТШ.

**Информационное содержание (молекулярно-генетическая организация).** Для изучения информационного содержания «необычных» пуфов использовались традиционные генетические и молекулярно-биологические подходы: цитологическая и генетическая локализация в пуфах генов с известными функциями, в частности, локусов генов ТШ; насыщение мутациями районов хромосом, в которых развиваются пуфы ТШ; исследование последовательностей ДНК и РНК в пуфах.

Делецционное картирование и мутационный анализ. Генетическое картирование и цитологическое определение места положения локусов ТШ в «необычных» пуфах проводили при использовании набора перекрывающихся делеций для выяснения значения нехватки отдельных частей пуфа в обеспечении чувствительности соответствующих районов хромосом к ТШ. Локус ТШ *93D D. melanogaster* цитологически картирован [49] с помощью анализа политенных хромосом у особей, гетерозиготных по хромосомным перестройкам (восемь дефишенси и одна инверсия), затрагивающим область пуфа ТШ. Две из используемых хромосомных перестроек, а именно дефишенси *Df(3R)e<sup>Gr4</sup>* и *Df(3R)GC14*, удаляют, по-видимому, весь или большую часть локуса ТШ: у личинок, гетерозиготных по одной из этих нехваток, в абберантном гомологе политенной хромосомы 3, анализируемом в состоянии асиапсиса, район *93D* утрачивает способность формировать пуф при ТШ, не обнаруживает заметной транскрипционной активности при повышенной температуре и гибридизации *in situ* с <sup>3</sup>H-РНК ТШ. Анализ расположения точек разрывов в хромосомах, несущих эти дефишенси, позволил заключить, что локус ТШ находится в *93D* между дистальной точкой разрыва при *Df(3R)e<sup>Gr4</sup>* и проксимальной точкой разрыва хромосомы с *Df(3R)GC14*, и поэтому может быть цитологически картирован с точностью до небольшого района между дисками *93D* 4 и *93D* 9 по карте Бриджеса [17]. На препаратах политенных хромосом клеток слюнных желез в этом районе достаточно четко виден лишь диск *D* 6—7 [49]. Заключение о размещении локуса ТШ в *93D* 6—7 полностью совпадает с результатами гибридизации политенных хромосом *D. melanogaster* с <sup>3</sup>H-РНК ТШ [43] и противоречит предположению Боннера (цит. по [49]) о локализации локуса ТШ в *93D* 3 и *93D* 5. Электронно-микроскопический анализ различных стадий развития пуфа ТШ *93D* [50] показал, что начальные стадии формирования пуфа при ТШ связаны с деконденсацией левой части диска *D* 6—7, а в максимально развитом пуфе ТШ происходит, по-видимому, «пассивная» деконденсация дисков *93D* 2,4 и правой части диска *93D* 6—7.

Проведены также комплементационный анализ, цитогенетическое и генетическое картирование 62 видимых и летальных точечных мутаций, индуцированных гамма-облучением, этиленметансульфонатом и диэпоксидом в области между дисками *93B* 11—13 и *93F* 6—8, включающей локус ТШ *93D* [51]. В этом районе удалось обнаружить 18 групп комплементации в дополнение к уже известному локусу *ebody* (*e*) и еще одному локусу, идентифицированному раньше при изучении особенностей комплементации особей, несущих *Df(3R)e<sup>Gr4</sup>* и *Df(3R)GC14*, т. е. всего не менее 20 генетических локусов. Однако ни одна из обнаруженных точечных мутаций не картируется в пределах локуса ТШ: все возникшие мутации комплементируют и с *Df(3R)e<sup>Gr4</sup>*, и с *Df(3R)GC14*, удаляющими локус ТШ в *93D* 6—7 [51]. Трудно решить, насколько справедливым и окончательным является вывод об отсутствии в районе *93D* локусов видимых и летальных мутаций. Возможно, здесь выявлены не все гены, и при используемой системе отбора просто не удалось обнаружить несущественных локусов, мутации которых не влияют на жизнеспособность и фенотипические признаки; наконец, отсутствие летальных мутаций может быть связано с наличием в *93D* повторяющихся последовательностей ДНК. Тем не менее следует отметить, что *93D* — единственный из «необычных» пуфов, информационное содержание которого изучалось путем насыщения этого района точечными мутациями.

Попытка локализации локуса ТШ в пуфе 2-48ВС *D. hydei* была впервые предпринята Берендесом и др. [52]. Гронд и др. [53, 54] уточнили цитологическую локализацию локуса ТШ. При гибридизации *in situ* клонированных последовательностей ДНК локуса 2-48В [55] с политенными хромосомами метка присутствует только над дисками 2-48В 7 и В 8 (по карте [53]). Дальнейшую более точную локализацию проводили при использовании хромосом особей, гетерозиготных по нехватке  $Df(2)e^{20}$ , затрагивающей район 2-48В.  $Df(2)e^{20}$  удаляет диски В 8, В 9 и В 10, а в гомологичных хромосомах, несущих эту делецию, в районе 2-48В не индуцируется пуф при ТШ и не обнаруживается заметной гибридизации с РНК, синтезированной на кДНК, клонированной последовательности ДНК, комплементарной транскриптам пуфа 2-48В [55]. Поэтому сделано заключение: диск В 7 не принимает участия в формировании пуфа 2-48В, а локус ТШ находится в диске 2-48В 8, который в электронном микроскопе выглядит как точечный диск средних размеров, и (или) в прилежащих к нему междисках [54]. При цитогенетическом картировании «необычных» локусов ТШ 93D *D. melanogaster* и 2-48В *D. hydei* выяснилось, что они тесно связаны с локусом *e* [56, 57]. Возникло даже предположение, что локус ТШ и локус *e* тождественны, т. е. что это один и тот же локус [35]. Однако позже было установлено, что хромосомные перестройки, удаляющие локус *e*, могут не затрагивать области хромосомы, где при ТШ развивается пуф 93D *D. melanogaster* [58]. Позднее локус *e* был картирован в 93D 1—2 слева от локуса ТШ 93D 6—7 [51]. Молекулярно-генетический анализ последовательностей ДНК [59] показал, что локус ТШ находится на расстоянии около 70 килооснований (ко) от локуса *e* [60]. У мутанта *D. hydei*, имеющего инверсию в хромосоме 2 ( $In(2)e^{10}$ ) с точкой разрыва в локусе *e*, при ТШ в районе 2-48В формируется пуф нормальных размеров [54]. Результаты анализа рестрикционных фрагментов, полученных при клонировании локуса ТШ, также совершенно однозначно свидетельствуют о том, что локус *e* достаточно хорошо отделен от единицы транскрипции локуса ТШ 2-48В и расположен дистальнее [55].

Пока все попытки локализовать в «необычных» пуфах другие гены с известными функциями или локусы, мутации которых летальны, не дали положительных результатов. Но нельзя полностью исключить возможности того, что генетическое содержание этих сложных (по крайней мере на уровне числа дисков) пуфов не исчерпывается генами, обнаруживающими реакцию на ТШ: делеционное картирование показывает, что не все диски, участвующие в формировании пуфа, например 2-48В у *D. hydei* [52], содержат последовательности, активируемые при ТШ. Не исключено, что при активации локусов ТШ другие диски «необычных» пуфов подвергаются «пассивной» деспирализации. В дальнейшем очень важно выяснить, существуют ли вообще в рамках этих «многодисковых» пуфов отдельные локусы, активируемые экдизоном, колхицином, ТШ и другими индуцирующими пуф агентами, и какие участки регуляторной зоны ответственны за обеспечение чувствительности к определенным воздействиям. Интересно отметить, что активируемый бензамидом локус у *D. melanogaster* недавно локализован в районе 93D 6—7 [61] там же, где и локус ТШ [49, 51].

Молекулярный анализ. Особенности организации последовательностей ДНК и типы транскриптов локуса ТШ 93D охарактеризованы сравнительно недавно: к этому времени все другие локусы ТШ *D. melanogaster* были клонированы и детально изучены [2]. Ховеманн и др. [59, 62] извлекали пуф 93D из хромосом на давленных препаратах клеток слюнных желез путем микродиссекции, накапливали десятки пуфов и, используя технику микроклонирования [63], выделяли и клонировали, таким образом, последовательности ДНК непосредственно из района 93D. Им удалось изолировать серию рекомбинантных клонов, содержащих, как показала гибридизация ДНК этих клонов с политенными хромосомами *in situ*, последовательности ДНК из района 93D 6—7, где генетическими методами был картирован локус ТШ [49, 51].

Эти изолированные последовательности ДНК использовали в качестве зондов, при помощи которых из библиотеки генов *D. melanogaster*, клонированных в фаге лямбда или космидном векторе, были извлечены геномные фрагменты ДНК, перекрывающие практически всю область пуфа ТШ 93D. Клонирование геномной ДНК из 93D, а также идентификация клонированных кДНК, комплементарных 93D РНК ТШ и полученных путем обратной транскрипции, позволили осуществить детальный молекулярный анализ локуса ТШ 93D. Ризек и др. [64] получили карту расположения сайтов рестрикции той области локуса ТШ 93D, которая интенсивно транскрибируется при ТШ. Эта область включает уникальный сегмент, расположенный проксимально по отношению к соседнему с ним участку гораздо большего размера, содержащему внутренние повторенные тандемные последовательности и связанному с уникальным при помощи олиго(А)-цепи. При рестрикции геномных фрагментов ДНК из локуса ТШ 93D эндонуклеазой *TagI* внутри последовательностей ДНК длиной 10—12 ко обнаружены повторенные единицы (*Alu-TagI-повтор*) размером около 280 пар нуклеотидов (п. н.) *Alu-TagI*-повторы являются характерными для пуфа ТШ 93D элементами генома *D. melanogaster*: эти ДНК-последовательности специфически гибридизуются *in situ* с единственным районом хромосомы 3R 93D 6—7; исключение составляет лишь последовательность, клонированная в фаге лямбда 13, рекомбинантная ДНК которой, по-видимому, повторена в хромоцентре [62]. Анализ РНК локуса ТШ 93D [64], изолированной из молодых мух, а также клонов кДНК, полученных при использовании препаратов РНК, выделенных из клеток жирового тела и эмбрионов, свидетельствует о том, что ДНК локуса ТШ 93D в определенной степени постоянно экспрессируется на этих стадиях развития. При ТШ наблюдается значительное увеличение числа транскриптов из уникальной, а также из соседней повторенной области. Используя геномные и кДНК клоны локуса 93D в качестве гибридизационных проб, удалось обнаружить два крупных класса транскриптов, количество которых увеличивается после ТШ: один из них представлен поли(А)-РНК, гетерогенной по длине и гомологичной *Alu-TagI*-повторенной области; другой — поли(А)+РНК, которая гибридизуется с уникальной частью локуса и присутствует в двух формах РНК разных размеров — сплайсированной и несплайсированной. Наблюдается необычно низкая способность к процессингу, которая очевидна даже в не подвергшихся стрессу клетках. При сравнении продуктов рестрикции клонированной кДНК и ДНК геномных клонов было показано, что у молодых мух прошедшей стадию процессинга первичный транскрипт неколинеарен с геномными последовательностями [64]: из первичного транскрипта длиной 1,9 ко вырезается единственный интрон около 700 п. н., что приводит к образованию зрелой 1,2 ко РНК ТШ. Анализ нуклеотидной последовательности [59] фрагмента геномной ДНК длиной 2,5 ко, содержащего ген ТШ 93D и прилежащие к нему 5' (500 п. н.) и 3' (100 п. н.) последовательности, а также двух клонированных последовательностей кДНК, позволил установить, что полный первичный транскрипт состоит из 1904 нуклеотидов. Вырезание внутренней последовательности размером 712 нуклеотидов приводит к образованию конечного продукта длиной 1192 нуклеотида, не включая поли(А) концов. Эти две, несплайсированная и сплайсированная, формы поли(А)+РНК присутствуют у личинок третьего возраста наряду с последовательностями РНК, имеющими варьирующие размеры. Количество последних увеличивается почти в пять раз при 35 и 37 °С. Считается [59], что эти РНК являются продуктами процессинга, которые образуются, начиная с одного и того же старта транскрипции, при незавершенном сплайсинге и 3'-терминации полиаденилированного предшественника 1,9 ко. И только 1,2 ко поли(А)+РНК, по-видимому, представляет собой сплайсированный и полиаденилированный РНК-продукт. Значительное количество несплайсированных продуктов отличает транскрипты локуса 93D от транскриптов других локусов ТШ *D. melanogaster*. Синтез поли(А)-РНК из пов-

торенной области постоянно и достаточно интенсивно происходит у взрослых мух и при нормальной температуре. У молодых мух сильная дополнительная транскрипция повторенной области в условиях ТШ приводит к появлению ряда неполиаденированных транскриптов. Продукты транскрипции *Alu-TagI*-повторенной области у личинок третьего возраста обнаруживаются во фракции РНК ТШ с большой молекулярной массой. При блот-гибридизации часто наблюдаются двойные полосы высокомолекулярных транскриптов, причем расстояния между ними варьируют в разных гелях. Поскольку обе полосы гибридизуются с пробой, содержащей интрон, предполагается [59], что эта особенность не является результатом незаконченного сплайсинга, а скорее связана с изменением числа повторенных единиц у отдельных особей анализируемой популяции, в то время как длина уникального сегмента относительно постоянна.

Такая генетическая нестабильность организации повторенной области характерна для луфа ТШ 2-48В *D. hydei* [55, 65]. Этот 93D-подобный локус ТШ также включает внутренне повторенную зону и область, прилегающую к повтору. Из коллекции клонов кДНК, копированной с ядерных транскриптов локуса 2-48В, выделен клон *N 09-15*, длина которого составляет около 500 п. н. Как показал полный анализ нуклеотидной последовательности клона *N 09-15*, эта кДНК содержит три повтора по 115 п. н. каждый, четвертый повтор с делецией 4 п. н., а также частичную копию пятого повтора (33 п. н.). Результаты гибридизации *in situ* ДНК клона *N 09-15* с политенными хромосомами свидетельствуют о том, что эта последовательность является специфической для локуса 2-48В и частью транскрипта этого локуса при ТШ. В локусе 2-48В присутствуют множественные повторы этой клонированной последовательности ядерного транскрипта. Геномная организация локуса высокополиморфна: в различных инбредных линиях, изолированных из природных популяций, обнаружено несколько вариантов структурной организации повторенных последовательностей. Например, в линии  $e^{ts}$  присутствует 11,5 ко *HindIII*-фрагмент (обозначен как конструкция А), а в линии с инверсией  $In(2)e^{10}$  — только фрагмент 13 ко (конструкция В). Эти конструкции аллельны, но число повторов *N 09-15* в каждой из них разное: имеются 10 повторов этой последовательности в конструкции А и 12 — в конструкции В. В лабораторной линии *HB137* обнаружен третий аллель, отличающийся от А и В. Одна хромосома никогда не содержит двух разных аллельных конструкций локуса 2-48В: рекомбинация, по-видимому, отсутствует и имеется лишь одна транскрипционная единица [55].

Поскольку повтор *N 09-15* был выделен при клонировании кДНК, копированной с ядерной поли(А)<sup>+</sup>РНК, синтезированной в условиях ТШ, то по крайней мере одна копия повтора должна была транскрибироваться при ТШ. Свойства дополнительного транскрипта, считываемого с уникальной части локуса ТШ 2-48В *D. hydei*, выяснились несколько позже, когда Гарб и др. [66, 67] получили субклоны последовательности кДНК, содержащей районы из 2-48В, расположенные в 5'-положении по отношению к области тандемных повторов. Наконец появилась возможность сравнить особенности организации «необычных» локусов ТШ у двух видов — *D. melanogaster* и *D. hydei* [66]. Анализ результатов гибридизации, рестрикции и секвенирования клонированных последовательностей ДНК из 93D [59, 62, 64, 68] и из 2-48В [65, 66] позволил обнаружить, что оба локуса производят транскрипты примерно одинаковых размеров и в одинаковых количествах [66]. В РНК ТШ обоих локусов преобладают три основных транскрипта, считывание которых начинается, по-видимому, с одного сайта транскрипции в уникальной части локусов. По сравнению с РНК ТШ 10—12; 1,9 и 1,2 ко, транскрибируемыми в пуфе 93D *D. melanogaster*, соответствующие транскрипты локуса ТШ 2-48В *D. hydei* имеют длину 9,4; 2,0 и 1,35 ко. Самый крупный ядерный транскрипт считывается у обоих видов с последовательности ДНК, которая включает длинную (несколько ко) цепь

прямых тандемных *Alu-Tag1*-повторов. Повторенная единица из *2-48B* (115 п. н.) более чем в два раза короче, чем *Tag1*-повтор локуса *93D* (280 п. н.). Повторенные *Alu-Tag1*-элементы строго консервативны внутри вида; между видами они различаются не только по длине, но и очень существенно — по нуклеотидной последовательности. Наиболее консервативной частью является короткая последовательность из девяти нуклеотидов ATAGGTAGG, присутствующая в единственном числе в каждом повторе у *D. hydei* и дважды — у *D. melanogaster*. Два более коротких транскрипта формируются в уникальной, прилегающей к повторам, части локуса и их размеры, как и длина последовательности интрона (700 п. н.), который удаляется при сплайсинге, сходны у обоих видов. Самый короткий транскрипт (1,2 ко у *D. melanogaster* и 1,35 ко у *D. hydei*) — это сплайсированная и полиаденилированная РНК ТШ, большая часть которой экспортируется в цитоплазму. Полный анализ нуклеотидной последовательности этих двух локусов убедительно подтверждает представление о том, что элементы ДНК *93D*-подобных локусов различаются намного больше, чем высококонсервативные последовательности структурных генов, кодирующих известные БТШ у разных видов дрозофилы. Среди немногочисленных гомологичных районов наиболее консервативными в уникальной части двух «необычных» локусов являются последовательности интрона [67]; отмечено несколько гомологичных участков рядом с районами, связанными с процессингом: консервативная последовательность из 56 нуклеотидов находится около 3'-сайта сплайсинга, участок из 16 нуклеотидов — рядом с 5'-сайтом сплайсинга и 14 нуклеотидов предшествуют сайту полиаденилирования. Короткая консервативная последовательность, характерная и для *93D*, и для *2-48B*, обнаруживает некоторую гомологию с консервативными элементами 5'-областей других типичных локусов ТШ *D. melanogaster* [66]. Гомологичные последовательности составляют лишь незначительную часть транскрибируемой области двух «необычных» локусов, но общие особенности молекулярной структуры, которые отличают их от генов, кодирующих БТШ, совершенно однозначно свидетельствуют в пользу того, что *2-48B* и *93D* являются эквивалентными локусами ТШ.

Сведения о молекулярной организации пуфа ТШ *20CD* практически отсутствуют: клонирование и непосредственное определение структуры последовательностей ДНК этого локуса ТШ не проводилось. Однако при гибридизации *in situ* отдельных клонированных фрагментов ДНК из генома *D. virilis* с политемными хромосомами наблюдается значительный уровень гибридизации района *20CD* с последовательностями ДНК из семейства повторяющихся *pDv*-элементов, представленных сотнями копий в геноме *D. virilis* и десятками копий в геномах других близкородственных видов группы *virilis* [69]. Кроме района *20CD*, эти *pDv*-элементы обнаруживают интенсивную гибридизацию более чем со 170 участками политемных хромосом *D. virilis* [70, 71] и способны к транспозициям в гомологичные хромосомы близких видов у межвидовых гибридов [69, 72]. В основе организации *pDv*-элементов лежат короткие тандемные повторы длиной 36 п. н., образующие кластеры, ограниченные прямыми концевыми повторами, имеющими в свою очередь с обеих сторон короткие инвертированные повторы [70, 72]. Обнаруживается значительный полиморфизм и в распределении мест локализации *pDv*-последовательностей: у особой лабораторной линии 160 наблюдаются две четкие полосы гибридизации в районе *20CD*, в то время как в линии 9, выделенной из природной популяции, в области пуфа ТШ *20CD* имеется лишь один сайт гибридизации *in situ* с H<sup>3</sup>-ДНК *pDv*-элементов [72]. В соответствующем пуфе ТШ хромосомы 2 у гомосеквентного вида *D. texana* *pDv*-последовательности полностью отсутствуют. Транскрипты последовательностей *pDv* ДНК гетерогенны по длине и входят, в основном, в состав фракции поли(А)-ядерной РНК [70], но пока неизвестно, усиливается ли при ТШ транскрипция повторенного сегмента в пуфе *20CD* у *D. virilis*.

Клонированные повторенные последовательности из «необычных» пуфов трех видов дрозофилы *93D*, *2-48B* и *20CD* так же, как и суммарная РНК ТШ этих видов, не обнаруживают перекрестной гибридизации с политемными хромосомами *D. melanogaster*, *D. hydei* и *D. virilis* [21, 55]. Однако нельзя не отметить на фоне существенных различий в их организации поразительного сходства в общей структуре повторенных единиц, расположенных кластерами длиной в несколько ко. Консервативные особенности организации уникальных и повторенных элементов «необычных» локусов [66—68] позволяют допустить, что функция этих локусов тоже консервативна.

**Возможные функции.** Активация «необычных» пуфов на некоторых стадиях личиночного развития, их специфическая индукция в экстремальных условиях, включая реакцию на ТШ, наконец, присутствие *93D*-подобных пуфов в геномах всех изученных видов дрозофилы — все эти факты позволяют предположить, что «необычным» локусам ТШ могут принадлежать важные клеточные функции. Тем не менее кодирующая функция, характерная для генов БТШ, расположенных в других пуфах ТШ, для *93D*-подобных локусов не доказана: кодируемые ими белки не обнаружены [20, 67]. Чтобы понять смысл активации пуфов в районе *93D D. melanogaster* и *2-48B D. hydei*, их ДНК была клонирована, получены рестрикционные пробы, содержащие последовательности повторенной части единицы транскрипции и прилегающей к повторы соседней уникальной области [59, 62, 64, 66, 68]. Рестрикционный анализ, опыты по синтезу кДНК, а также результаты секвенирования последовательностей из пуфов четко демонстрируют присутствие в клонх кДНК истинных полиаденилированных цитоплазматических транскриптов (1,2 ко у *D. melanogaster* и 1,35 ко у *D. hydei*), которые являются продуктами превращения РНК-предшественников, кодируемых уникальной частью локусов. Открытым пока остается самый существенный вопрос — могут ли эти или другие транскрипты «необычных» локусов функционировать как мРНК? Организация генов ТШ *93D D. melanogaster* и *2-48B D. hydei*, как показал анализ нуклеотидной последовательности геномных и кДНК клонов, копированных с транскриптов, содержащихся преимущественно во фракции цитоплазматической поли(А)+РНК [59, 66], на первый взгляд, напоминает структуру других эукариотических генов, транскрибируемых с участием РНК-полимеразы II. Однако обнаруживается ряд особенностей, среди них наиболее неожиданной является наличие лишь короткой открытой рамки считывания. Самые большие полипептиды, которые способны потенциально кодировать последовательности в *93D*, могут иметь длину не более 34 аминокислот, а в *2-48B* — 40 аминокислот. Короткая открытая рамка считывания в *2-48B D. hydei* не обнаруживает почти никакого сходства в *93D* в последовательности нуклеотидов. В *2-48B* рамка считывания прерывается стоп-кодонами и затем возобновляется сразу или после нескольких нуклеотидов, так что эти участки содержат две более короткие открытые рамки считывания, которые примерно соответствуют одной в *93D* в той же позиции. Гарб и Пардью [67] использовали для поиска предполагаемых (минорных? [73]) фракций БТШ систему геля, позволяющую выделять короткие полипептиды. Однако не удалось обнаружить белков, соответствующих рамке считывания цитоплазматической 1,2 ко РНК ТШ *93D*, способных синтезироваться и накапливаться в первые 60 мин ТШ. Как и Ховеманн и др. [59], авторы [67] полагают, что РНК ТШ *93D*-подобных локусов не кодирует белков, функционирующих при ТШ. Если транскрипты этих пуфов все-таки транслируются, то такие белки, по-видимому, значительно отличаются от других БТШ по характеру метаболизма, стабильности и способам контроля процессов их трансляции.

Генетический анализ представил дополнительные доводы в пользу ограниченной кодирующей функции генов *93D*-подобных пуфов. В работах Молера и Пардью [49, 51] установлено, что, несмотря на значительные размеры транскрибируемой области локуса ТШ *93D* (око-

ло 9,6 ко согласно расчетам [43]), уровень его мутабельности очень низок по сравнению с соседними районами хромосом: в диске *93D* 6—7 не удалось обнаружить точковых видимых и летальных мутаций, и только делеции этого района влияют на активность локуса при ТШ. Особи-трансгетерозиготы по нехваткам, удаляющим весь или большую часть локуса ТШ, *Df(3R)GC14/Df(3R)e<sup>Gr4</sup>*, способны тем не менее не только выживать при 37 °С, но и приобретать толерантное состояние — устойчивость к «жесткому» ТШ при 40 °С после умеренного нагревания при 32—33 °С [51]. Гетерозиготы по двум дефишенси часто не доживают до стадии куколки, у имаго-трансгетерозигот иногда обнаруживаются необычные признаки, свидетельствующие о нарушении процессов развития, однако часть трансгетерозиготных особей жизнеспособна. У личинок с таким генотипом отсутствие пуфа в районе *93D* не приводит к сколько-нибудь заметным изменениям картины пуфинга политеменных хромосом слюнных желез, индуцируемого при ТШ: пуфы закономерно формируются в районах локализации генов БТШ и исчезают в ходе восстановительного периода при нормальной температуре. В клетках яичников мух-гетерозигот по компаунду этих дефишенси при ТШ обнаруживается синтез всех известных БТШ в количествах, характерных для мух дикого типа, а при 25 °С клетки возвращаются к нормальному синтезу белка и не наблюдается появления каких-либо новых белковых фракций во время и после ТШ. Создается, таким образом, впечатление, что локус ТШ *93D* не влияет на формирование всех других пуфов ТШ, на синтез БТШ и не играет существенной роли в регуляции активности генов, кодирующих синтез БТШ [49, 51]. Подобное заключение об отсутствии регуляторных функций *93D* выглядит, однако, слишком категоричным; сомнения остаются, так как в хромосомах с нехватками могли частично сохраниться последовательности ДНК этого локуса. Кроме того, требуют объяснения известные факты [24, 28], свидетельствующие о возможном влиянии пуфа *93D* на изменение относительной активности пуфов ТШ *87A* и *87C* при использовании в качестве индуцирующих агентов бензамида и колхицина в сочетании с ТШ. Известны также наблюдения о неспособности к индукции при ТШ одной дозы генов пуфа *93D* в нормальном гомологе у гетерозигот по нехватке, удаляющей локус ТШ *D* 6—7, и уменьшении при этом почти вдвое размеров пуфа *87C* [61]. У летального клеточного мутанта *D. melanogaster l(1) ts 403*, который характеризуется низким уровнем синтеза БТШ при повышенной температуре, при ТШ практически отсутствует индукция пуфа и наблюдается лишь слабое включение Н<sup>3</sup>-уридина в районе *93D* на фоне резкого увеличения активности и размеров других пуфов ТШ — *63BC*, *87A* и *87C*, в которых в течение нескольких часов после ТШ еще продолжается при нормальной температуре накопление вновь синтезированной РНК ТШ [74]. Регуляторная функция «необычных» локусов пока не доказана. Тем не менее *93D*-подобные локусы не являются псевдогенами, так как не имеют своих функциональных эквивалентов в геноме дрозофилы.

Возможно, «необычным» пуфам принадлежит какая-то специфическая функция в ядре, где их транскрипты преимущественно и обнаруживаются. Использование метода непрямой иммунофлюоресценции позволило установить, что моноклональные антитела против хромосомных белков, а именно против полипептидов с молекулярной массой 38 000 (*P11*, *Q14* и *Q16*) и 55 000 (*Q18*) в условиях ТШ специфически взаимодействуют с единственным районом хромосомы *3R D. melanogaster* — *93D* [42] и связываются с уникальными ультраструктурами этого пуфа РНП-гранулами и гигантскими РНП-частицами. Только один антиген, полипептид 55 000, узнаваемый моноклональным антителом *Q18*, выявляется после продолжительного ТШ в пуфах *20CD D. virilis* и *2-48B D. hydei*, обнаруживающих сходную структурную организацию с пуфом *93D* [36, 41]. Присутствие антигена во всех трех «необычных» пуфах ТШ еще раз подтверждает предположение о том, что они функционально эквивалентны у этих видов дрозофилы. С другой

стороны, отсутствие консерватизма организации этих локусов ТШ на уровне первичной структуры последовательностей ДНК [55], а также тот факт, что белки, узнаваемые антителами против полипептида 38 000, есть только в пуфе *93D D. melanogaster* [41], свидетельствуют о возможной дивергенции этих локусов в процессе эволюции. Тем не менее гигантские РНП-структуры могут представлять собой общую уникальную форму сохранения частиц, накапливающихся после ТШ [41]. Практически ничего не известно о составе белков и РНК в «необычных» пуфах ТШ; неясно, вся ли РНК, входящая в состав уникальных РНП-комплексов, синтезируется в самих пуфах. Во фракции РНП, содержащей антитела против белка 38 000 (группа *P11* антител), наряду с транскриптами пуфа *93D* обнаруживаются и другие РНК, в том числе низкомолекулярные ядерные  $U_1/U_2$  РНК, которые, как известно, преимущественно находятся в ядре и функции которых тоже пока не выяснены [75]. Необходимы прямые определения химического состава пуфов, поскольку неизвестно, содержат ли гигантские частицы только РНП, синтезируемые в «необычных» пуфах, или связывают другие РНП и обладают ли свойством связывания короткие tandemные повторы, обнаруженные среди последовательностей ДНК этих локусов, либо уникальные элементы этих последовательностей. Если предположить, что организация гигантских РНП-частиц определяется структурой и свойствами повторенных последовательностей ДНК, которые совершенно различны по крайней мере у трех изученных видов дрозофилы, то возникает вопрос — как могут полиморфные РНК быть упакованы в сложные РНП-комплексы совершенно одинакового строения? Действительно, несмотря на очевидный эволюционный консерватизм структурной организации «необычных» локусов, ДНК-последовательности, кодирующие их транскрипты при ТШ, по-видимому, быстро эволюционируют. Так, РНК ТШ *D. hydei* обнаруживает гибридизацию с гомологичными локусами в хромосомах *D. neohydei* и *D. eohydei*, которые принадлежат к той же группе *hydei* [21]. Но при перекрестной гибридизации *in situ* не наблюдается соответствия между последовательностями *93D*-подобных локусов у трех разных видов — *D. melanogaster*, *D. hydei* и *D. virilis* [21, 55] и даже у близкородственных видов группы *virilis* при гибридизации с клонированными последовательностями ДНК *pDv*-элементов [69, 72].

В этом смысле организация *93D*-подобных локусов сходна с устройством локуса *87C 1 D. melanogaster*, которому они функционально не гомологичны. Типичный пуф ТШ *87C*, кроме генов, кодирующих синтез БТШ 70, содержит перемежающиеся с  $\gamma$ -элементами дополнительные сегменты ДНК [16], так называемые  $\alpha\beta$ -элементы [76], которые интенсивно транскрибируются при ТШ. Клонированные  $\alpha\beta$ -элементы гибридизуются *in situ*, кроме *87C 1*, с хромоцентром и несколькими другими локусами политенных хромосом *D. melanogaster*, но только в диске *87C* они экспрессируются при ТШ. Цитоплазматическая РНК, комплементарная  $\alpha\beta$ -последовательностям, не транслируется ни в один из известных БТШ; они не влияют и на трансляцию других БТШ.  $\alpha\beta$ -Элементы вообще не обнаружены в гомологичном пуфе *D. simulans*. У этого вида, близкородственного *D. melanogaster*, они присутствуют лишь в хромоцентре и не транскрибируются при ТШ. У гибридов *D. melanogaster* × *D. simulans* [77] локусы *87A* и *87C*, оба содержащие копии структурных генов БТШ 70, по-разному отвечают на ТШ в присутствии бензамида [24], так же как в хромосомах родительских видов: у *D. simulans* их активность примерно одинакова, а в гомологичной хромосоме *D. melanogaster* размеры пуфа *87A* гораздо больше, чем *87C*. Лакхотия и др. [77] считают, что локус *93D* оказывает влияние на транскрипционную активность *87C* посредством индуцируемых ТШ  $\alpha\beta$ -последовательностей. Существуют представления, согласно которым  $\alpha\beta$ -последовательности у *D. melanogaster* переместились в результате транспозиции из хромоцентра в диск *87C 1* и под влиянием сильного промотора гена БТШ 70 приобрели способность активироваться при ТШ [2].

Аналогичная гипотеза может быть предложена для объяснения происхождения повторенной области в «необычных» пуфах ТШ. Действительно у *D. virilis* повторенные *pDv*-последовательности обнаруживают типичные свойства мобильных диспергированных элементов генома дрозифилы [69, 72]. В то же время ядерный и цитоплазматический транскрипты двух «необычных» пуфов обнаруживают консервативные свойства [66, 68]: возможно, *93D*-подобные локусы могут выполнять не одну, а две функции — в ядре и цитоплазме. Неизвестно, насколько сходна у разных видов дрозифилы организация регуляторных зон таких локусов ТШ и как обеспечивается регуляция их активности, которая независима от других локусов ТШ. Регуляторные элементы генов ТШ *93D* и *2-48B* [66] имеют некоторую гомологию коротких последовательностей, которые характерны для 5'-областей мРНК, кодирующих БТШ [78, 79].

Основные проблемы структурно-функциональной организации «необычных» локусов ТШ непосредственно связаны с изучением повторенных и уникальных последовательностей ДНК пуфов, транскрипционных единиц, регуляторных элементов ДНК. Уже сейчас совершенно очевидно, что структура и последовательности повторенных участков этих генов существенно различаются у *D. melanogaster*, *D. hydei* и *D. virilis*. Обнаружены лишь небольшие участки гомологии уникальных последовательностей между *93D D. melanogaster* и его предполагаемым аналогом — пуфом *2-48B D. hydei*. Следует выяснить, существуют ли подобные консервативные элементы ДНК у всех других видов дрозифилы и каким образом достигается поразительное сходство ультраструктурной организации «необычных» пуфов ТШ. Похоже, что функция этих локусов ТШ может сохраняться, несмотря на огромные различия их нуклеотидной последовательности. Для изучения особенностей функционирования «необычных» локусов ТШ сейчас могут быть широко привлечены системы трансляции последовательностей *in vitro*, системы трансформации ДНК в эмбрионы дрозифилы с участием *P*-элементов. В генетических конструкциях, обеспечивающих возможность трансформации и экспрессии генов, в качестве эффективных промоторов в дальнейшем могут быть использованы и регуляторные элементы самих генов из «необычных» пуфов ТШ, способных к длительной специфической активации под влиянием многочисленных индуцирующих агентов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Heat shock from bacteria to man / Eds M. J. Schlesinger, M. Ashburner, A. Tissieres.— New York: Cold Spring Harbor Lab., 1982.—431 p.
2. Heat shock response of eukaryotic cells / L. Nover, D. Hellmund, D. Neumann et al. // Biol. Zbl.— 1984.—103, N 2.— P. 357—435.
3. Ritossa F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila* // Experientia.— 1962.—18, N 12.— P. 571—572.
4. Berendes H. D., Holt Th. K. H. The induction of chromosomal activities by temperature shocks // Genen en phaenen.— 1964.—9, N 1.— P. 1—7.
5. Berendes H. D. Factors involved in the expression of gene activity // Chromosoma.— 1968.—24, N 3.— P. 418—437.
6. Berendes H. D., van Breugel F. M. A., Holt Th. K. H. Experimental puffs in salivary gland chromosomes of *Drosophila hydei* // Ibid.— 1965.—16, N 1.— P. 35—46.
7. Berendes H. D. Synthetic activity of polytene chromosomes // Int. Rev. Cytol.— 1973.—35, N 1.— P. 61—108.
8. Ashburner M. Pattern of puffing activity in the salivary gland chromosomes of *Drosophila*. V. Responses to environmental treatment // Chromosoma.— 1970.—31, N 3.— P. 356—376.
9. Ashburner M., Bonner J. J. The induction of gene activity in *Drosophila* by heat-shock // Cell.— 1979.—17, N 1.— P. 241—254.
10. Губенко И. С., Баричева Э. М. Пуфы *Drosophila virilis*, индуцируемые температурой и другими внешними воздействиями // Генетика.— 1979.—15, № 8.— С. 1399—1412.
11. Pascual L., De Frutos R. Stress response in *Drosophila subobscura*. I. Puff activity after heat shocks. // Biol. Cell.— 1986.—57, N 2.— P. 127—133.
12. Scouras Z. G., Karamanlidou G. A., Kastiris C. D. The influence of heat shock on the puffing pattern of *Drosophila auraria* polytene chromosomes // Genetica.— 1986.—69, N 2.— P. 213—218.

13. Lewis M., Helmsing P. J., Ashburner M. Parallel changes in puffing activity and patterns of protein synthesis in salivary glands of *Drosophila* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1975.—72, N 9.—P. 3604—3608.
14. Bonner J. J., Pardue M. L. The effect of heat shock on RNA synthesis in *Drosophila* tissues // Cell.—1976.—8, N 1.—P. 43—50.
15. Spradling A., Pardue M. L., Penman S. J. Messenger RNA in heat shocked *Drosophila* cells // J. Mol. Biol.—1977.—109, N 2.—P. 559—587.
16. Sequence organization and transcription two heat shock loci in *Drosophila* / K. J. Livak, R. Freund, M. Schweber et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—1978.—75, N 11.—P. 5613—5617.
17. Bridges C. B. Salivary chromosome maps with a key to the banding of the chromosomes of *Drosophila melanogaster* // J. Hered.—1935.—26, N 1.—P. 60—64.
18. Pelham H. Activation of heat-shock genes in eukaryotes // Trends in Gene.—1985.—N 1.—P. 31—35.
19. Mukherjee T., Lakhota S. C. H<sup>3</sup>-uridine incorporation in the puff 93D and in chromocentric heterochromatin of heat shocked salivary glands of *Drosophila melanogaster* // Chromosoma.—1979.—74, N 1.—P. 75—83.
20. Lakhota S. C., Mukherjee T. Absence of novel translation products in relation to induced activity of the 93D puff in *Drosophila melanogaster* // Ibid.—1982.—85, N 3.—P. 369—374.
21. Peters F. P. A. M. N., Lubsen N. H., Sondermejer P. J. A. Rapid sequence in a heat shock locus of *Drosophila* // Ibid.—1980.—81, N 2.—P. 271—280.
22. Lakhota S. C., Singh A. K. Conservation of 93D puff of *Drosophila melanogaster* in different species of *Drosophila* // Ibid.—1983.—86, N 2.—P. 265—278.
23. Полуэктова Е. В. Изменение спектра пuffed в процессе развития у *Drosophila virilis* // Онтогенез.—1975.—6, № 3.—С. 263—269.
24. Lakhota S. C., Mukherjee T. Specific activation of puff 93D of *Drosophila melanogaster* by benzamide and the effect of benzamide treatment on the heat shock induced puffing activity // Chromosoma.—1980.—81, N 1.—P. 125—136.
25. Lakhota S. C., Mukherjee T. Specific induction of the 93D puff in *Drosophila melanogaster* by a homogenate of heat shocked larval salivary gland // Ind. J. Exp. Biol.—1981.—19, N 1.—P. 1—4.
26. Singh A. K., Lakhota S. C. Further observation on inducibility of 93D puff of *Drosophila melanogaster* by homogenate of heat shocked cells // Ibid.—1983.—21, N 3.—P. 363—366.
27. Mukherjee T., Lakhota S. C. Heat shock puff activity in salivary glands of *Drosophila melanogaster* larval during recovery from anoxia at two different temperatures // Ibid.—1982.—20, N 3.—P. 437—439.
28. Lakhota S. C., Mukherjee T. Specific induction of 93D puff in polytene nuclei of *Drosophila melanogaster* by colchicine // Ibid.—1984.—22, N 1.—P. 67—70.
29. Leenders H. J., Berendes H. D. The effect of changes in the respiratory metabolism upon genome activity in *Drosophila*. 1. The induction of gene activity // Chromosoma.—1972.—37, N 4.—P. 433—444.
30. Leenders H. J., Beckers P. J. A. The effect of changes in respiratory metabolism upon genome activity. A correlation between induced gene activity and an increase in activity of respiratory enzyme // J. Cell. Biol.—1972.—55, N 2.—P. 257—265.
31. Derksen J., Berendes H. D., Willart E. Production and release of a locus-specific ribonucleoprotein product in polytene nuclei of *Drosophila hydei* // Ibid.—1973.—59, N 4.—P. 661—668.
32. Leenders H. J., Knoppien W. G. Respiration of larval salivary glands of *Drosophila* in relation to the activity of specific genome loci // J. Insect Physiol.—1973.—19, N 11.—P. 1793—1800.
33. Brady T., Belew K. Pyridoxine induced puffing (II—48C) and synthesis of a 40 kD protein in *Drosophila hydei* salivary glands // Chromosoma.—1981.—82, N 1.—P. 89—98.
34. Belew K., Brady T. Induction of tyrosine aminotransferase by pyridoxine in *Drosophila hydei* // Ibid.—P. 99—106.
35. Scalenghe F., Ritossa F. The puff inducible in region 93D is responsible for the synthesis of the major «heat-shock» polypeptide in *Drosophila melanogaster* // Ibid.—1977.—63, N 4.—P. 317—327.
36. Derksen J. Induced RNP production in different cell types of *Drosophila* // Cell Differ.—1975.—4, N 1.—P. 1—10.
37. Swift H. Nuclear morphology of the chromosome // In vitro.—1965.—1, N 1.—P. 26—49.
38. Gubenko I. S., Eugen'ev M. B. Cytological and linkage maps of *Drosophila virilis* chromosomes // Genetica.—1984.—65, N 2.—P. 127—139.
39. Selective induction of giant puff in *Drosophila hydei* by vitamin B<sub>6</sub> and derivatives / H. J. Leenders, J. Derksen, P. M. J. M. Maas, H. D. Berendes // Chromosoma.—1973.—41, N 4.—P. 447—455.
40. Derksen J., Willart E. Cytochemical studies on RNP complexes produced by puff 2-48BC in *Drosophila hydei*. Uranil acetate and phosphotungstic acid staining // Ibid.—1976.—55, N 1.—P. 57—68.
41. Heat-shock puff 93D from *Drosophila melanogaster*: accumulation of a RNP specific antigen associated with giant particles of possible storage function / A. Dangli, C. Groud, P. Kloentzel, E. K. F. Bautz // EMBO J.—1983.—2, N 10.—P. 1747—1751.

42. Dongli A., Bautz E. K. F. Differential distribution of nonhistone proteins from polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster* after heat shock // Chromosoma.—1983.—88, N 2.—P. 201—207.
43. Transcription and metabolism of RNA from the *Drosophila melanogaster* heat shock puff site 93D / J. A. Leungel, L. J. Ransom, M. L. Graham, M. L. Pardue // Ibid.—1980.—80, N 3.—P. 237—253.
44. Bonner J. J., Kerby R. L. RNA polymerase II transcribes all of the heat shock induced genes of *Drosophila melanogaster* // Ibid.—1982.—85, N 1.—P. 93—108.
45. *In situ* hybridization of nuclear and cytoplasmic RNA to locus 2-48B in *Drosophila hydei* / N. H. Lubsen, P. J. A. Sondermeijer, M. Pages, C. Alonso // Ibid.—1978.—65, N 3.—P. 199—212.
46. Sondermeijer P. J. A., Lubsen N. H. The activity of two heat shock loci of *Drosophila hydei* in tissue culture cells and salivary gland cells as analyzed by *in situ* hybridization of complementary DNA // Ibid.—1979.—72, N 3.—P. 281—291.
47. Bisseling T., Berendes H. D., Lubsen N. H. RNA synthesis in puff 2-48B after experimental induction in *Drosophila hydei* // Cell.—1976.—8, N 2.—P. 299—304.
48. Zimulev I. F., Belyaeva E. S., Semeshin V. F. Informational content of polytene chromosomes bands and puff // CRC Crit. Rev. Biochem.—1981.—11.—P. 303—340.
49. Mohler J., Pardue M. L. Deficiency mapping of the 93D heat shock locus in *Drosophila melanogaster* // Chromosoma.—1982.—86, N 4.—P. 457—467.
50. Electron microscopical analysis of *Drosophila* polytene chromosomes. III. Mapping of puffs developing from one band / V. F. Semeshin, E. M. Baritcheva, E. S. Belyaeva, I. F. Zimulev // Ibid.—1985.—91, N 3.—P. 234—250.
51. Mohler J., Pardue M. L. Mutational analysis of the region surrounding the 93D heat shock locus of *Drosophila melanogaster* // Genetics.—1984.—106, N 2.—P. 249—265.
52. Structure and function in the genome of *Drosophila hydei* / H. D. Berendes, C. Alonso, P. J. Helmsing et al. // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.—1973.—38.—P. 645—654.
53. Grond C. J., Derksen J. The banding pattern of the salivary gland chromosomes of *Drosophila hydei* // Eur. J. Cell Biol.—1983.—30, N 1.—P. 144—148.
54. Identification of heat shock band 2-48B of *Drosophila hydei* and determination of its haploid DNA content / C. J. Grond, F. P. A. M. N. Peters, J. Derksen, M. Ploeg // Ibid.—1983.—31, N 2.—P. 150—157.
55. Chromosomal arrangement of heat shock locus 2-48B in *Drosophila hydei* / F. P. A. M. N. Peters, C. J. Grond, P. J. A. Sondermeijer, N. H. Lubsen // Chromosoma.—1982.—85, N 3.—P. 237—249.
56. D'Aessandro A., Ritossa F., Scalenghe F. Cytological localization of the «ebony» locus in *Drosophila* // *Drosophila* Inf. Serv.—1977.—52.—P. 46.
57. Grond C. J., Lubsen N. H., Beck H. Recombination frequency and DNA content of the distal part of the second chromosome of *Drosophila hydei* Sturtevant // *Experientia*.—1982.—38, N 6.—P. 328—329.
58. Henikoff S. A more conventional view of the «ebony» gene // *Drosophila* Inf. Serv.—1980.—55.—P. 61.
59. Hovemann B., Walldorf U., Ryseck R.-P. Heat shock locus 93D of *Drosophila melanogaster*: an RNA with limited coding capacity accumulates precursor transcripts after heat shock // *Mol. and Gen. Genet.*—1986.—204, N 2.—P. 334—340.
60. Characterization of the ebony locus in *Drosophila melanogaster* / R. Caizzi, F. Ritossa, R.-P. Ryseck et al. // Ibid.—1987.—206, N 1.—P. 66—70.
61. Burma P. K., Lakhota S. C. Expression of 93D heat shock puff of *Drosophila melanogaster* in the deficiency genotype and its influence on activity of the 87C puff // *Chromosoma*.—1986.—84, N 4.—P. 273—278.
62. Cloning of heat shock locus 93D from *Drosophila melanogaster* / U. Walldorf, S. Richter, R.-P. Ryseck et al. // *EMBO J.*—1981.—3, N 11.—P. 2499—2504.
63. Microdissection and cloning of DNA from a specific region of *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes / F. Scalenghe, E. Turco, J. E. Edstrom et al. // *Chromosoma*.—1981.—82, N 2.—P. 205—216.
64. Ryseck R.-P., Walldorf U., Hovemann B. Two major RNA products are transcribed from heat shock locus 93D of *Drosophila melanogaster* // Ibid.—1985.—93, N 1.—P. 17—20.
65. The unusual structure of heat shock locus 2-48B in *Drosophila hydei* / F. P. A. M. N. Peters, N. H. Lubsen, U. Walldorf et al. // *Mol. Gen. Genet.*—1984.—197, N 2.—P. 392—398.
66. A *Drosophila* heat shock locus with a rapidly diverging sequence but a conserved structure / J. C. Garbe, W. G. Bendena, M. Alfano, M.-L. Pardue // *J. Biol. Chem.*—1986.—261, N 36.—P. 16889—16897.
67. Garbe J. C., Pardue M.-L. Heat shock locus 93D of *Drosophila melanogaster*: a spliced RNA most strongly conserved in the intron sequence // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.—1986.—83, N 6.—P. 1812—1816.
68. Heat shock loci 93D of *Drosophila melanogaster* and 2-48B of *Drosophila hydei* exhibit a common structural and transcriptional pattern / R.-P. Ryseck, U. Walldorf, T. Hoffmann, B. Hovemann // *Nucl. Acid Res.*—1987.—15, N 8.—P. 3317—3347.
69. Transposition of mobile genetic elements in interspecific hybrids of *Drosophila* / M. B. Evgen'ev, G. N. Yenikolopov, N. I. Peunova, Y. V. Ilyin // *Chromosoma*.—1982.—85, N 3.—P. 375—386.
70. Рассеянные по геному повторяющиеся последовательности у видов *Drosophila* группы *virilis*. I. Рестриктивный анализ, репликация, транскрипция / Е. С. Зелен-

- цова, Р. П. Вашакидзе, Н. И. Пеунова, М. Б. Евгеньев // Молекуляр. биология.— 1985.—19, № 5.— С. 1367—1377.
71. Губенко И. С., Евгеньев М. Б. Районы политемных хромосом *Drosophila virilis*, содержащие множественные диспергированные последовательности ДНК *pDvIII* // Генетика.— 1986.—22, № 3.— С. 457—466.
  72. Dispersed repeats in *Drosophila virilis*: elements mobilized by interspecific hybridization / E. C. Zelentsova, R. P. Vashakidze, A. C. Krayev, M. B. Evgen'ev // Chromosoma.— 1986.—93, N 4.— P. 469—476.
  73. Belew K., Brady T. Changes in phenol-soluble nuclear proteins correlated with puff induction in *Drosophila hydei* // Cell Diff.— 1981.—10, N 2.— P. 229—235.
  74. Evgen'ev M. B., Zaitseva O. I., Titarenko H. Autoregulation of heat-shock system in *Drosophila melanogaster*: analysis of heat shock response in temperature-sensitive cell-lethal mutant // FEBS Lett.— 1985.—188, N 2.— P. 286—290.
  75. The genes coding for 4 snRNAs of *Drosophila melanogaster*: localization and determination of gene numbers / H. P. Salur, T. Schmidt, R. Dudler et al. // Nucl. Acids Res.— 1983.—11, N 1.— P. 77—90.
  76. Lis J., Prestidge L., Hogness D. S. A novel arrangement of tandem repeated genes at a major heat shock site in *Drosophila melanogaster* // Cell.— 1978.—14, N 4.— P. 901—919.
  77. Kar Chowdhuri D., Lakhota S. C. Different effects of *93D* on *87C* heat shock puff activity in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans* // Chromosoma.— 1986.—84, N 4.— P. 279—284.
  78. Parker C. S., Topol J. A *Drosophila* RNA-polymerase II transcription factor binds to the regulatory site of an *hsp70* gene // Cell.— 1984.—37, N 1.— P. 273—283.
  79. Wu C. An exonuclease protection assay reveals heat shock element and TATA box DNA-binding proteins in crude nuclear extracts // Nature.— 1985.—317, N 6032.— P. 84—87.

Институт молекуляр. биологии и генетики АН УССР,  
Киев

Получено 20.04.88

#### «UNUSUAL» LOCI OF DROSOPHILA GENOME ACTIVATED BY HEAT SHOCK AND OTHER STRESS CONDITIONS (A REVIEW)

I. S. Gubenko

Institute of Molecular Biology and Genetics,  
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

##### Summary

The *93D* heat-shock (*hs*) locus differs fundamentally from the other well characterized protein-coding *hs* loci of *D. melanogaster*. Despite a high level of RNA production, *93D* appears to code no major *hs* proteins (*hsp*'s) whose genes are mapped in other large *hs* puffs. A major, *93D*-like, puff with the unusual inducibility characteristics and specific structural and functional features is a component of the *hs* response in every *Drosophila* species studied.

DNA from «unusual» *hs* loci of *93D D. melanogaster* and *2-48B D. hydei* is cloned and characterized. The unique and neighbouring repetitive DNA sequences of the loci are transcribed, but these transcripts would probably contain no coding sequences. The ultrastructural features of such loci show considerable evolutionary conservation: *93D D. melanogaster*, *2-48B D. hydei* and *20CD D. virilis* *hs* puffs contain giant RNP-particles with specific antigenic determinants which are absent in other typical *hs* puffs. In contrast, the sequence composition of the «unusual» *hs* loci evolves much faster than the sequences coding the major *hsp*'s.

Unusual characteristics of the unique *hs* puffs permit suggesting that the function of these loci is conservative in spite of divergence at the nucleotide sequence level.