

УДК 577.152.31:591.3/.4/.8:595.773.4

А. М. Андриевский, канд. биол. наук, доцент
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина,
e-mail: andriev_scar@mail.ru

ОРГАННО-ТКАНЕВАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ КАРБОКСИЭСТЕРАЗ У *DROSOPHILA* *MELANOGASTER* В ОНТОГЕНЕЗЕ

Исследовано органно-тканевое распределение основных типов карбоксиэстераз у личинок, куколок и имаго дрозофилы. На уровне экстрактов изолированных органов и тканей установлены места локализации холинэстераз и арилэстераз. Обнаружены онтогенетические различия в проявлении активности карбоксиэстеразами отдельных органов и тканей. Изучены эффекты ингибирования холинэстераз прозеринном и фенилметилсульфонилфторидом. Обсуждается вопрос о наличии полового диморфизма по признаку проявления активности карбоксиэстераз у дрозофилы на стадии имаго.

Ключевые слова: карбоксиэстеразы, гистотопография, онтогенез, дрозофила.

Несмотря на то, что отдельные представители семейства карбоксиэстераз (КФ: 3.1.1.1—10) обнаружены у животных организмов относительно давно, биохимические знания об этой группе гидролитических ферментов до сих пор носят фрагментарный характер и требуют всестороннего уточнения и систематизации [1]. Наиболее глубоко изучена ацетилхолинэстераза нейронов некоторых рыб и млекопитающих — высокоспецифический регулятор уровня ацетилхолина в синапсах [1—3]. Установление аминокислотной последовательности, образующей наиболее важный участок активного центра этой гидролазы, а главное — наличие в ней серина, позволило отнести этот фермент к группе сериновых наряду с трипсином, химотрипсином, эластазой, акрозином и другими протеазами, легко проявляющими и эстеразную активность. Перечисленные ферменты объединяет и то, что все они ингибируются фтор-производными фосфорорганических соединений, вступающих в трудно обратимую реакцию с гидроксильной группой серина. Особый интерес представляет вопрос, связанный с определением субстратной специфичности этих энзимов. Так, химотрипсин крупного рогатого скота (согласно нашим данным [17]) обладает способностью расщеплять сложные эфиры карбоновых кислот и нафтола, более эффективно гидролизующиеся иными специализированными холинэстеразоподобными ферментами различного происхождения.

У насекомых, в частности, у тутового шелкопряда, комнатной мухи, термитов, комаров, а также у дрозофилы, обнаружены различные карбоксиэстеразы, в том числе ацетилхолинэстераза, алилэстераза и арилэстераза [1, 2, 4—11]. Поскольку в большинстве случаев авторы анализировали недифференцированные ткани всего организма, трудно судить, с какими органами связана и какую физиологическую функцию выполняет та или иная карбоксиэстераза. Что касается онтогенетических изменений в системе карбоксиэстераз на органно-тканевом уровне у насекомых, то этот вопрос представляется наименее изученным. В связи с этим данная работа выполнялась с целью исследовать распределение по

органам и тканям основных типов карбоксиэстераз у дрозофилы на отдельных стадиях ее развития.

Материалы и методы исследования

В основу исследования положен метод щелочного электрофоретического разделения кислых карбоксиэстераз [12] с последующим выявлением их активности посредством проведения гистохимических реакций азосочетания в полиакриламидном геле [12, 13].

В качестве объекта исследования использована лабораторная линия дикого типа плодовой мушки *Drosophila melanogaster* (Meigen). Исходные родительские формы были отобраны из природной популяции Одесского региона. Экспериментальную линию поддерживали в лабораторных условиях при стабильной температуре +25 °С на полной питательной среде, содержащей суспензию пекарских дрожжей, манную крупу, свекловичный сахар и водорослевый агар [14]. Потомство дрозофилы получали путем нетесного инбридинга и синхронизировали его с точностью до 1,5—2 часов. Для этого популяцию родительских форм выдерживали в течение 3—4 часов на свежей питательной среде с целью получения одноразовой кладки яиц.

В каждом варианте опыта было использовано по 10 личинок предкулолочного периода развития, 10 односуточных куколок и 10 самцов имаго первых 2—3 часов после вылета. В отдельном случае в эксперимент включали молодых виргинных самок из той же имагинальной популяции.

Выделение органов и тканей, приготовление их экстрактов, проведение электрофореза и определение активности карбоксиэстераз осуществляли следующим образом.

Отмытую в дистилляте от питательной среды личинку помещали в каплю (5 мкл) 0,9 % физиологического раствора на предметном стекле и с помощью препаровальных игл отсекали вершину головного отдела. Далее автоматической микропипеткой осуществляли забор всей гемолимфы и переносили ее в эппендорф, смешивая с 30 мкл 0,1 М глицин- NaOH буфера рН 9,0 с добавкой 1 % тритона X-100. После сбора гемолимфы к личиночному препарату добавляли 10 мкл солевого раствора и последовательно удаляли головной мозг (сохраняя комплекс: протоцеребрум — дейтоцеребрум — тритоцеребрум), слюнные железы (попарно), средний кишечник (отсекая заднюю кишку по месту соединения ее с мальпигиевыми сосудами), жировое тело и кутикулу. Органы в порядке их выделения быстро промывали в физиологическом растворе (объем 10—15 мл) и помещали в лизирующий буфер с тритоном, взятый в объеме 30 мкл. Имагинальные диски (первая пара головного отдела) личинки, а также зачаточные гонады выделяли с помощью микропипетки, оснащенной капиллярным накопником. У куколок, после разрыва пупариума и покровных оболочек, отбирали только гемолимфу с фрагментированными жировыми телами.

Самцов имаго перед препарированием наркотизировали диэтиловым эфиром в течение 5 минут, после чего декапитировали, отсекали вершину брюшка и отбирали гемолимфу, смешанную с 5 мкл физиологического раствора. Далее выделяли половой аппарат, образуемый семенниками, придаточными железами семенников и семяизвергательным каналом, промывали его в солевом растворе и помещали в экстрагирующий буфер. В отдельном варианте опыта придаточные железы с семяизвергательным каналом отделяли от семенников и экстрагировали порознь.

Смешанные гомогенаты выделенных из 10 особей органов и тканей готовили непосредственно в эппендорфах, используя металлический притертый пес-

тик, после чего их центрифугировали при 10 000 g в течение 15 минут на холоде.

Виргинных самок гомогенизировали в системе 0,1 М глицин-NaOH буфера pH 9,0 с 1 % тритоном X-100 в соотношении 1 : 6. Общие гомогенаты тканей куколок и имаго готовили на том же буфере, используя указанную пропорцию.

Полученные экстракты подвергали электрофоретическому разделению в условиях вертикально-пластинчатого (размеры: 140×120×1 мм) 10 % полиакриламидного геля. Перед внесением в слот гелевого блока 10 мкл пробы смешивали с 5 мкл 0,01 % бромфенолового синего, приготовленного на 60 % растворе сахарозы. В отдельных случаях предварительно к 10 мкл экстракта добавляли 5 мкл 0,05 % водного раствора прозерина («Дарница», Украина) или 5 мкл 10 мМ буферного (pH 9,0) раствора фенилметилсульфонилфторида («Sigma», США), используемых в качестве ингибиторов холинэстераз. После нанесения образцов устанавливали ток силой 10, затем 20 мА, на 10 и 20 минут соответственно, далее поддерживали его на уровне 40 мА в расчете на два гелевых блока до завершения электрофореза.

После окончания электрофоретического разделения опытных образцов, гелевые блоки отмывали от внутреннего щелочного буфера (pH 8,3—8,9) дистиллированной водой до нейтрального значения pH; затем замачивали на 15 минут в 0,1 М фосфат-фосфатном буфере pH 7,4. Нейтрализованные таким образом гелевые блоки помещали в инкубационную среду, содержащую в первом варианте 25 мг α -нафтилацетата, 25 мг β -нафтилацетата и 50 мг соли диазония — прочного синего RR, и во втором варианте — 50 мг α -нафтилпропионата и 50 мг диазотата. В ряде опытов с целью усиления ингибирующего эффекта прозерина гелевые блоки после разделения в них карбоксиэстераз замачивали в 10 мл 0,005 % раствора данного соединения, после чего добавляли буфер, субстраты (α -нафтилацетат и β -нафтилацетат, вместе и отдельно) и соль диазония. Перед внесением в инкубационный буфер (0,1 М фосфат-фосфатный, pH 7,4) субстраты и диазоний отдельно растворяли в 100 мкл диметилформамида. Инкубацию проводили при температуре +25 °C в течение одного часа, после чего реакционные смеси декантировали, гели промывали дистиллятом и оставляли в водной среде на 10—12 часов для усиления эффекта окрашивания за счет продолжения процесса гидролиза остаточного количества субстрата, находящегося в структуре геля. После достижения оптимального прокрашивания геля в зонах локализации карбоксиэстераз полиакриламидные блоки сканировали, оформляли в виде электрофореграмм и анализировали, используя лицензионную компьютерную программу «АнаИС» (Поджарский М. А., Рыбалка Д. Г., 2004). Представленные в работе иллюстрации выполняли в полном соответствии с оригиналом в черно-белом варианте изображения.

При осуществлении экспериментальной части работы использовали в основном коммерческие препараты фирм «Chemapol» (Чехия) и «Reanal» (Венгрия). Для проведения электрофореза применяли прибор марки «VE-4» производства фирмы «Helicon» (Россия).

Результаты исследования и обсуждение

Согласно полученным данным, система карбоксиэстераз у дрозофилы дикого типа представлена четырьмя основными формами энзимов, отличающимися стабильными электрофоретическими свойствами, в частности, подвижностью в полиакриламидном геле при pH 8,9. Первая форма — наименее подвижная ($R_f = 0,047$) — обладает ярко выраженной α -фильной нафтилацетатной либо нафтилпропионатной активностью; вторая — со средней минимальной под-

вижностью ($Rf = 0,140$) — всегда проявляет невысокую строго α -фильную активность по любому производному α -нафтола и отличается четким фокусированием в ходе фореа; третья — со средней максимальной подвижностью ($Rf = 0,210$), в зависимости от источника выделения обнаруживает различный уровень α -фильной активности; наконец, четвертая форма — наиболее подвижная ($Rf = 0,280$) — характеризуется ярко выраженной β -фильной эстеразной активностью, проявляющейся в присутствии α - и β -нафтилацетата, в то же время она способна расщеплять отдельно взятый α -нафтилпропионат.

Наряду с основными (мажорными) формами карбоксиэстераз у дрозофилы могут встречаться и их дополнительные, слабо выраженные минорные компоненты ($Rf = 0,444, 0,560, 0,675$), разнообразие которых определяется, на наш взгляд, как органно-тканевыми, так и онтогенетическими особенностями.

Согласно нашим данным, распределение определенных форм карбоксиэстераз по органам и тканям у личинок и имаго дрозофилы носит специфический характер (рис. 1 и рис. 2). Так, в гемолимфе личинок обнаруживается высокая активность быстроподвижной карбоксиэстеразы, всегда проявляющей β -фильность по отношению к нафтолпроизводным. В то же время остальные фракции эстераз либо вовсе отсутствуют, либо встречаются в следовых количествах. На стадии имаго в гемолимфе самцов наблюдается усиление α -фильной активности как медленноподвижной, так и среднеподвижных форм карбоксиэстераз. При этом β -фильный фермент остается высокоактивным.

Общей особенностью головного мозга личинок и головного отдела самцов имаго является то, что они обладают сильно выраженной активностью первых трех форм α -фильных карбоксиэстераз, в то время как β -фильная фракция эстеразы выявляется исключительно в тканях головного отдела взрослой мухи. В слонных железах личинок активность медленноподвижных α -фильных эстераз оказывается едва выраженной при полном отсутствии других форм. Еще менее выражено проявление тех же фракций ферментов в тканях пищеварительного канала личинок дрозофилы. Что касается жирового тела, то представленное у личинок ассоциированной тканью, оно содержит две четко фокусирующиеся формы карбоксиэстераз: медленноподвижную и среднеподвижную, проявляющие α -фильность в системе с двумя субстратами. Одни и те же формы фермента встречаются и в гемолимфе куколок, и в гемолимфе самцов, что связано с фрагментацией жирового тела во время окукливания личинок и присутствием его фрагментов в кровеносной системе на всех последующих стадиях развития. Поэтому можно предположить, что «чистая» гемолимфа куколок и имаго, так же, как и гемолимфа личинок, практически не содержит α -фильных форм карбоксиэстераз.

Значительное количество медленноподвижных форм эстераз связано с тканями кутикулы. В то же время здесь обнаруживаются следы быстроподвижной фракции, обладающей α -нафтилацетатной и α -нафтилпропионатной активностью. При этом β -фильный фермент отсутствует вовсе.

Исследование карбоксиэстераз смешанных тканей полового аппарата самцов имаго показало наличие в них чрезвычайно высокой активности β -фильной эстеразы (рис. 1 и рис. 2). Из числа α -фильных форм здесь выделяется медленноподвижная, активно гидролизующая как α -нафтилацетат, так и α -нафтилпропионат. При анализе экстрактов тканей отдельно взятых семенников и придаточных желез с семяизвергательным каналом было установлено, что придаточные железы по содержанию β -фильной эстеразы во много раз превосходят ткань семенников. В то же время лишь ткань этих органов содержит α -фильные формы: медленноподвижную и среднеподвижную (рис. 1 (B_1 — B_2) и рис. 2 (B_2)). В отличие от полового аппарата взрослых самцов, ткань зачатков гонад у личинок практи-

Локализация карбоксиэстераз у дрозофилы

чески лишена трех основных форм карбоксиэстераз. Наряду с перечисленными выше органами и тканями были проанализированы экстракты первой пары имгинальных дисков головного сегмента личинок. Как видно из рисунка 1 (Б₁ и Б₂), в этих структурах представлены три из четырех форм карбоксиэстераз, которые обнаруживаются у дрозофилы. При этом активность β-фильной формы проявляется крайне слабо. Примечательной особенностью изучаемых форм карбоксиэстераз личинок, куколок и имаго дрозофилы оказалось то, что основная медленноподвижная, а также средняя быстроподвижная формы, обладающие

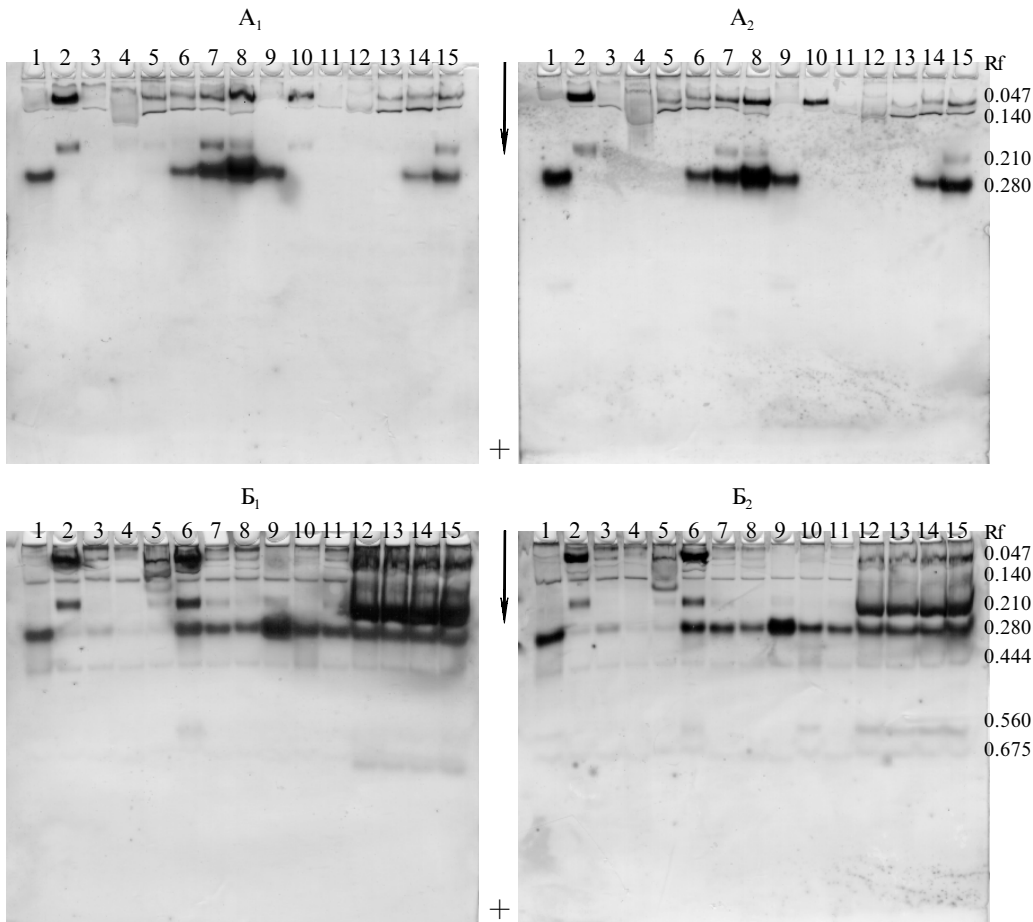


Рис. 1. Электрофоретические спектры карбоксиэстераз изолированных органов и тканей личинок, куколок и имаго *Drosophila melanogaster*:

Гель А₁. Субстраты: α-нафтилацетат + β-нафтилацетат. Треки: личинки: 1 — гемолимфа, 2 — головной мозг, 3 — слюнная железа, 4 — кишечник, 5 — жировое тело; куколки: 6 — гемолимфа; имаго ♂♂: 7 — гемолимфа, 8 — половой аппарат; личинки: 9 — гемолимфа + прозерин, 10 — головной мозг + прозерин, 11 — слюнная железа + прозерин, 12 — кишечник + прозерин, 13 — жировое тело + прозерин; куколки: 14 — гемолимфа + прозерин; имаго ♂♂: 15 — гемолимфа + прозерин.

Гель А₂. Субстрат: α-нафтилпропионат. Описание треков то же, что и для геля А₁.

Гель Б₁. Субстраты: α-нафтилацетат + β-нафтилацетат. Треки: личинки: 1 — гемолимфа, 2 — головной мозг, 3 — имгинальные диски, 4 — гонада, 5 — кутикула; имаго ♂♂: 6 — головной отдел, 7 — гемолимфа, 8 — семенник, 9 — придаточная железа семенника; личинки: 10 — гемолимфа + прозерин; имаго ♂♂: 11 — гемолимфа + прозерин; имаго виргинные ♀♀: 12—15 — органно-тканевая смесь.

Гель Б₂. Субстрат: α-нафтилпропионат. Описание треков то же, что и для геля Б₁. Вертикальными стрелками указано направление движения ферментов в ходе электрофореза

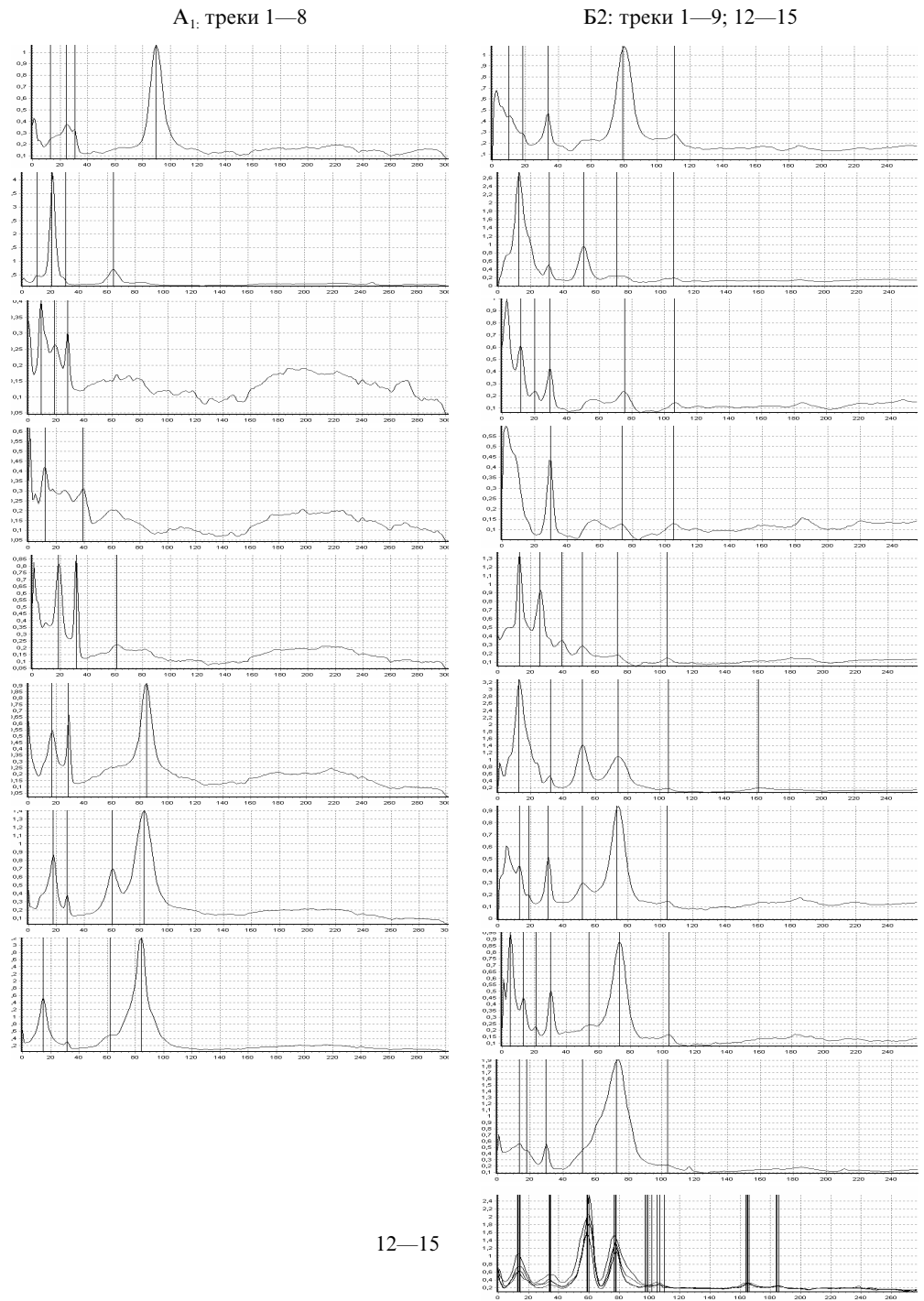


Рис. 2. Денситограммы отдельных треков гелевых блоков, представленных на рисунке 1:

По оси x — длина трека (пиксели); по оси y — оптическая плотность фракций, соответствующих локализации карбоксиэстераз в гелевом блоке (ΔD_0 , относительные единицы). Нумерация треков: сверху — вниз

α -фильной карбоксиэстеразной активностью, сильно подавляются двумя различными по химической природе соединениями, являющимися специфическими ингибиторами сериновых гидролаз и, в частности, холинэстераз, — фенилметилсульфонилфторидом и прозеринном. Наиболее эффективно прозерин действует на указанные две формы карбоксиэстераз после их электрофоретического разделения в полиакриламидном геле (рис. 3 (A₁—A₂) и рис. 4 (A₁—A₂)). Введение же этого соединения в экстракт перед форезом приводит к менее выраженному ингибированию. Это можно объяснить, с одной стороны, тем, что моле-

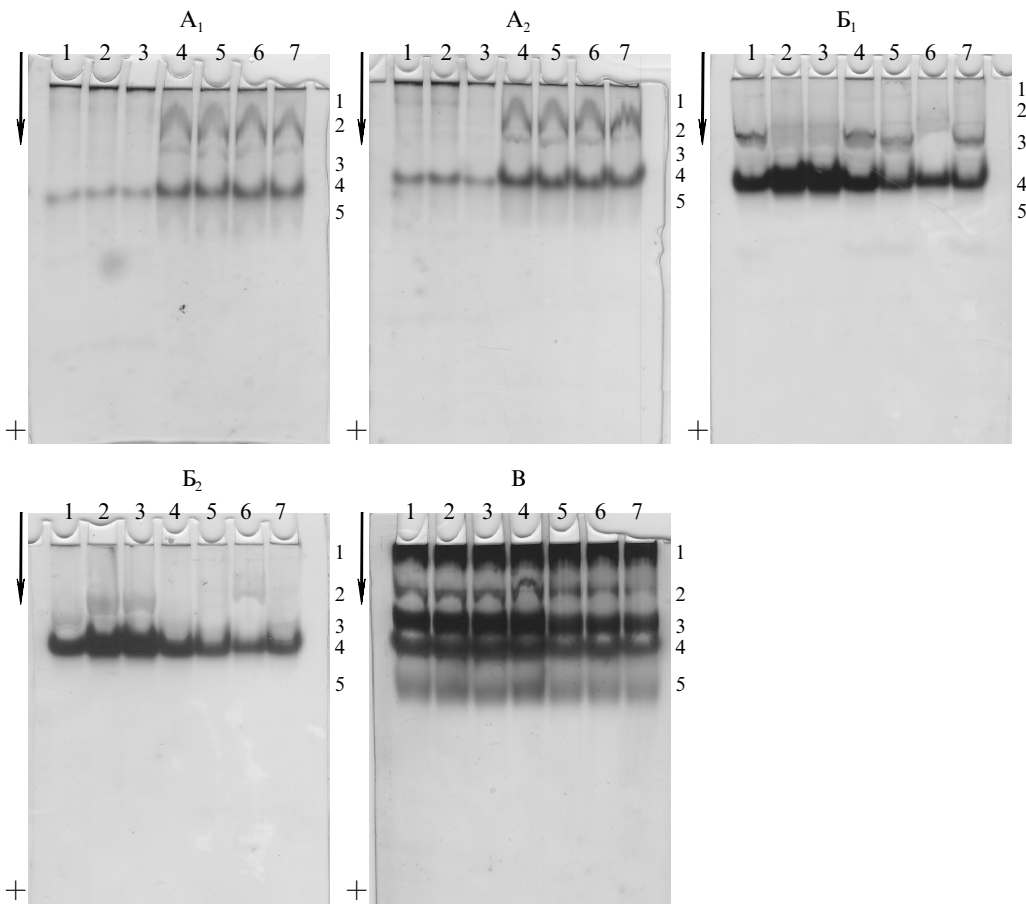
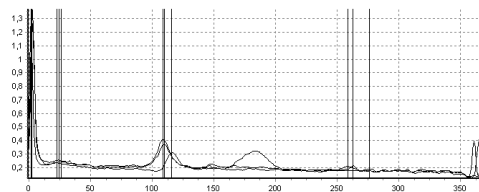


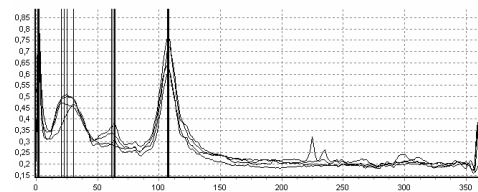
Рис. 3. Влияние прозерина и фенилметилсульфонилфторида на карбоксиэстеразы тканей *Drosophila melanogaster*:

Гель A₁: прозерин. Субстраты: α -нафтилацетат + β -нафтилацетат. Треки: 1—3 — куколки; 4—7 — имаго.
 Гель A₂: прозерин. Субстрат: α -нафтилпропионат. Треки: 1—3 — куколки; 4—7 — имаго.
 Гель B₁: фенилметилсульфонилфторид. Субстрат: α -нафтилпропионат. Треки: 1 — $\sigma\sigma$ контроль; 2—3 — $\sigma\sigma$ + 10 мМ фенилметилсульфонилфторид; 4 — $\sigma\sigma$ + 0,025 % прозерин; 5 — $\varphi\varphi$ контроль; 6 — $\varphi\varphi$ + 10 мМ фенилметилсульфонилфторид; 7 — $\varphi\varphi$ + 0,025 % прозерин.
 Гель B₂: фенилметилсульфонилфторид. Субстрат: β -нафтилацетат. Треки: описание то же, что и для геля B₁.
 Гель B: контроль. Субстрат: α -нафтилацетат + β -нафтилацетат. Треки: 1—4 — $\sigma\sigma$; 5—7 — $\varphi\varphi$. Цифры по вертикали — номера ферментов в порядке возрастания электрофоретической подвижности: 1 — ацетилхолинэстераза (тетрамер, α -специфичная B-эстераза), 2 — ацетилэстераза (α -специфичная C-эстераза), 3 — ацетилхолинэстераза (димер, α -специфичная B-эстераза), 4 — β -специфичная эстераза (A-эстераза), 5 — ацетилхолинэстераза (мономер, α -специфичная B-эстераза). Вертикальными стрелками указано направление движения ферментов в ходе электрофореза

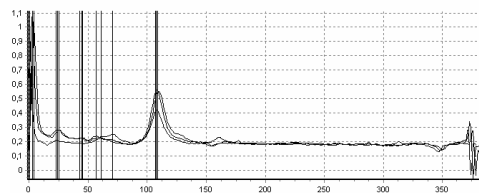
А₁: треки 1—3



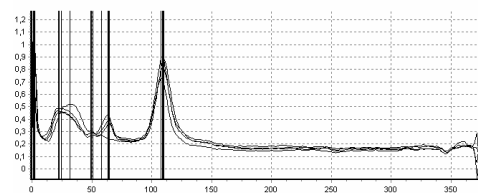
А₁: треки 4—7



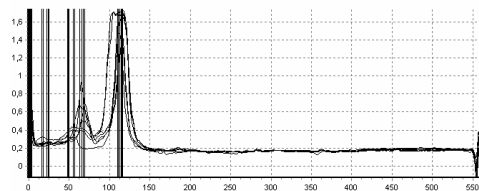
А₂: треки 1—3



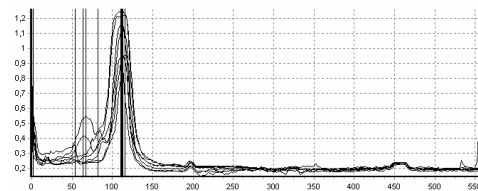
А₂: треки 4—7



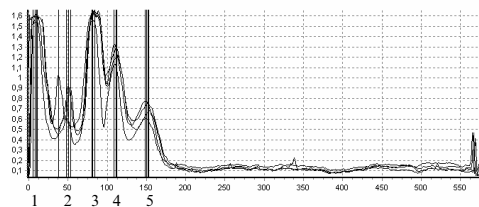
Б₁: треки 1—7



Б₂: треки 1—7



В: треки 1—4



В: треки 5—7

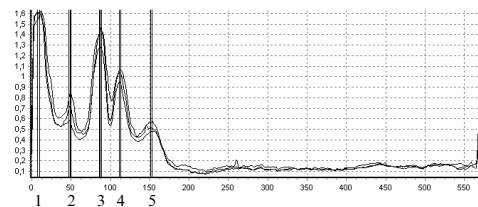


Рис. 4. Денситограммы треков гелевых блоков, представленных на рисунке 3:

По оси x — длина трека (пиксели); по оси y — оптическая плотность фракций, соответствующих локализации карбоксиэстераз в гелевом блоке (относительные единицы). Цифры по горизонтали — номера ферментов в порядке возрастания электрофоретической подвижности: 1 — ацетилхолинэстераза (тетрамер, α -специфичная B -эстераза), 2 — ацетилэстераза (α -специфичная C -эстераза), 3 — ацетилхолинэстераза (димер, α -специфичная B -эстераза), 4 — β -специфичная эстераза (A -эстераза), 5 — ацетилхолинэстераза (мономер, α -специфичная B -эстераза)

кула неостигмина, являясь органическим катионом, связывается с анионным центром холинэстераз путем образования ионной связи, которая может нарушаться при разнонаправленном движении кислых холинэстераз и основного прозерина в условиях щелочного электрофореза. С другой стороны, если после электрофореза сохраняются эквимольные соотношения между ингибируемыми ферментами и ингибитором, то частичное восстановление эстеразной активности во время инкубации можно рассматривать как результат конкурентного взаимодействия субстратов с прозеринном за место в активном центре фермента. Иначе проявляется действие на те же формы карбоксиэстераз фенолметил-

сульфонилфторида. Этот органический ингибитор, связываясь с гидроксильной группой серина в активном центре холинэстеразоподобных ферментов, практически необратимо инактивирует их, независимо от того, на каком этапе выделения фермента подействовал ингибитор.

Наблюдаемые результаты инактивации прозеринном и фенилметилсульфонилфторидом первой и третьей α -фильных форм карбоксиэстераз дают основание полагать, что связанная с тканями головного сегмента (головной мозг личинки, ткани головы имаго, иннервирующие органы аксоны нейронов) наименее подвижная и, вероятно, наиболее высокомолекулярная форма представляет собой ацетилхолинэстеразу, тогда как вторая, связанная с теми же тканями более подвижная форма, является холинэстеразой. Оба этих фермента, очевидно, образуют группу алифатических карбоксиэстераз (группу *B*) у дрозофилы, подобную таковой у млекопитающих [1]. Вторая форма карбоксиэстеразы, имеющая место, по данным электрофоретического анализа, во многих органах и тканях, практически не ингибируется ни неостигмином, ни фтор-производным и, по всей видимости, представляет *C*-группу карбоксиэстераз. В ходе индивидуального развития дрозофилы эта эстераза характеризуется относительной стабильностью в проявлении активности по используемым в опыте синтетическим субстратам.

Что касается четвертой, β -фильной формы карбоксиэстеразы, имеющей ярко выраженные онтогенетические и органно-тканевые особенности в проявлении активности, то она слабо подавляется прозеринном и сильно активируется 10 мМ фенилметилсульфонилфторидом, непосредственно введенным в экстракт тканей имаго перед электрофоретическим разделением ферментов (рис. 3 (B_1 – B_2)) и рис. 4 (B_1 – B_2)). Проводя аналогию с подобными ферментами высших животных [1, 2, 15, 16], можно заключить, что этот энзим представляет собой ароматическую карбоксиэстеразу группы *A*. На стадии личинки локализация этой аромэстеразы связана исключительно с гемолимфой, тогда как на стадии имаго у самцов этот же фермент присутствует и в тканях головного отдела, и в тканях семенников, и особенно высоко его содержание в придаточных железах полового аппарата.

В отдельном экспериментальном исследовании были обнаружены черты полового диморфизма по уровню проявления активности аромэстеразы у репродуцирующих самок и половозрелых самцов имаго (рис. 3 (*B*)) и рис. 4 (*B*)). Более высокий уровень активности этого фермента наблюдался у самцов. Вместе с тем в суммарных тканях самок при относительно низком уровне арилэстеразы отмечался очень высокий уровень холинэстеразы. Можно предположить, что активация ароматической эстеразы у самок ассоциирована с началом репродуктивного периода. Об этом свидетельствует крайне низкая активность этого фермента у молодых виргинных самок (рис. 1 (B_1 — B_2)) и рис. 2 (B_2)). Наблюдаемая на электрофореграммах степень интенсивности окрашивания зон локализации аромэстеразы тканей самок достигается лишь к 12 часу дополнительной инкубации, тогда как высокий уровень проявления активности их холинэстеразы может быть зарегистрирован уже через 1 час. Высказанное предположение подтвердится, если будет показано, что в процессе геронтогенеза виргинные самки будут сохранять низкий уровень арилэстеразы, в отличие от активно репродуцирующих самок.

Выводы

1. Система кислых карбоксиэстераз у *Drosophila melanogaster* представлена четырьмя основными четко различающимися типами ферментов, два из которых можно отнести к группе алифатических эстераз (группа *B*: ацетилхолинэ-

тераза и холинэстераза), один — к группе С и один — к группе ароматических эстераз (группа А: арилэстераза).

2. Карбоксиэстеразы группы В *Drosophila melanogaster* сильно подавляются фенолметилсульфонилфторидом и прозеринном; эстераза С обладает устойчивостью к действию этих соединений; аромэстераза мало чувствительна к прозерину и сильно активируется фтор-производным.

3. У личинок и имаго дрозофилы органно-тканевое распределение карбоксиэстераз носит специфический характер: аромэстераза в основном локализована в гемолимфе личинок и в придаточных железах и гемолимфе самцов имаго; ацетилхолинэстераза и холинэстераза содержатся в тканях нервной системы у личинок, а также в тканях головного отдела самцов имаго; С-эстераза присутствует в небольшом количестве практически во всех органах и тканях.

4. По проявлению активности карбоксиэстераз у *Drosophila melanogaster* наряду с органно-тканевыми наблюдаются ярко выраженные онтогенетические и половые различия.

Литература

1. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. — М.: Мир, 1982. — Изд. в 3-х т. — Т. 1. — 389 с.
2. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы. — М.: Мир, 1986. — 374 с.
3. Буданцев А. Ю., Ярков А. В., Иванова Ю. В. Ацетилхолинэстераза в гиппокампаальной формации при диссоциированном состоянии, вызванном введением физостигмина и пентобарбитала (количественное биохимическое исследование) // Нейрохимия. — 1998. — Т. 15, № 2. — С. 137—145.
4. Ruvolo-Takasusuki Maria Claudia C., Collet Thais. Characterization of *Nasutitermes globiceps* (Isoptera: Termitidae) esterases // Biochem. Genet. — 2000. — V. 38, N 11—12. — P. 367—375.
5. Хрунин А. В. Особенности взаимодействия эстераз насекомых и млекопитающих с производными 1,3,2-дигетерафосфоринана и тио- и дитиокислот фосфора, содержащими фрагменты N-ацилированных кислот: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М.: Московский педагогический государственный университет, 2000. — 16 с.
6. Иванова Е., Стойкова Т., Вълчев И., Колева С., Мурлева П. Электрофоретично проучване на неспецифичните естерази при вида *Reticulitermes lucifugus*, разпространен в България // Науч. тр. биол. / Пловдив. унив. — 1999. — Т. 35, № 6. — С. 99—103.
7. Shiotsuki Takahiro, Banning Bryony, Hirai Makoto, Kikuchi Kyoko, Hammock Bruce D. Charakterization and affinity purification of juvenile hormone esterase from *Bombyx mori* // Biosci, Biotechnol. and Biochem. — 2000. — V. 64, N 8. — P. 1681—1687.
8. Qiao Chuan Ling, Sun Zi Qing, Liu Jun E. New esterase enzymes involved in organophosphate resistance in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) from Guang Zhou, China // J. Med. Entomol. — 1999. — V. 36, N 6. — P. 666—670.
9. Tavares Mara Garcia, de Azeredo-Oliveira Maria Tercilia Vilela, Ceron Carlos Roberto. Tissue-specific expression of esterases in *Triatoma infestans* (Triatominae, Heteroptera) // Genet. and Mol. Biol. — 1998. — V. 21, N 4. — P. 461—464.
10. Stojan Jure, Marcelo Véronique, Estrada-Mondaca Sandino, Klaebe Alain, Masson Patrick, Fournier Didier. A putative kinetic model for substrate metabolisation by *Drosophila* acetylcholinesterase // FEBS Lett. — 1998. — V. 440, N 1—2. — P. 85—88.
11. Shi Mingan, Yuan Jianzhong, Wu Jun, Zhuang Peijun, Tang Zhenhua. Studies on the kinetics of acetylcholinesterase in the resistant and susceptible strains of housefly // Entomol. Sin. — 2001. — V. 8, N 1. — P. 30—38.
12. Андриевский А. М., Кучеров В. А. Выделение и идентификация карбоксиэстераз из *Drosophila melanogaster* // Вісник ОНУ. — 2004. — Т. 9. — Вып. 2. — С. 11—22.
13. Берстон М. Гистохимия ферментов. — М.: Мир, 1965. — 464 с.
14. Медведев Н. Н. Практическая генетика. — М.: Наука, 1966. — 240 с.
15. Овчинников Ю. А. Биоорганическая химия. — М.: Просвещение, 1987. — 815 с.

16. Лизосомы. Методы исследования / Под ред. Д. Дингла. — М.: Мир, 1980. — 342 с.

17. Андриевский А. М., Кучеров В. А., Тоцкий В. Н. Система карбоксиестераз *Drosophila melanogaster* в онтогенезе // Вісник ОНУ. — 2007. — Т. 12. Вип. 5. — С. 7—18.

О. М. Андриевський

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
кафедра генетики і молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна,
e-mail: andriev_scar@mail.ru

**ОРГАНО-ТКАНИННА ЛОКАЛІЗАЦІЯ КАРБОКСИЕСТЕРАЗ
У *DROSOPHILA MELANOGASTER* В ОНТОГЕНЕЗІ**

Резюме

Досліджено органо-тканинний розподіл основних типів карбоксиестераз у личинок, лялечок та імаго дрозофіли. На рівні екстрактів ізольованих органів і тканин встановлено місця локалізації холінестераз та арилестераз. Знайдено онтогенетичні відмінності в прояві активності карбоксиестераз окремих органів і тканин. Вивчено ефекти інгібування холінестераз прозерином та фенілметилсульфонілфторидом. Обговорюється питання про наявність статевого диморфізму за ознакою прояву активності карбоксиестераз у дрозофіли на стадії імаго.

Ключові слова: карбоксиестерази, гістотопографія, онтогенез, дрозофіла.

A. M. Andrievsky

Odesa National Mechnykov University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanska str., 2, Odesa, 65026, Ukraine,
e-mail: andriev_scar@mail.ru

**ORGAN-TISSUE LOCALIZATION OF CARBOXYLESTERASES
IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* IN ONTOGENESIS**

Summary

Organ-tissue distribution of the main types of carboxylesterases in larva, pupae and adult *Drosophila* have studied. Localization of cholinesterase and arilesterases in the organs and tissues has been established. Ontogenetic futures in the manifestation of carboxylesterases activity in the individual organs and tissues have been detected. Study of the inhibition effects of neostigmine and fenilmetilsulfonylfluorid on cholinesterases have been studied. The question of the presence of sexual dimorphism in carboxylesterases activity on the stage imago of *Drosophila* has been discussed.

Key words: carboxylesterase, histotopography, ontogenesis, *Drosophila*.