

УДК 575.24:595.77X.4

ІНДУКЦІЯ НІТРОЗОЕТИЛСЕЧОВИНОЮ ДОМІНАНТНИХ ЛЕТАЛЬНИХ МУТАЦІЙ ТА Х-ЗЧЕПЛЕНИХ ВИДИМИХ МУТАЦІЙ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Н. Голуб, І. Козаревська, Я. Черник

Львівський національний університет імені Івана Франка,
вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна,
e-mail: holub_74@yahoo.com

Досліджено вплив нітрозоетилсечовини на індукцію домінантних летальних мутацій, частоту появи видимих мутантів та мутантів зі змінами структур головного мозку по Х-хромосомі у *Drosophila melanogaster*. З'ясовано, що нітрозоетилсечовина у концентрації 0,5 мкг/мл (LD_{50} для лінії y^2w^{a4}) призводить до збільшення частоти виникнення домінантних летальних мутацій у 6 разів порівняно з контролем. У цій дозі нітрозоетилсечовина зумовлює виникнення видимих мутантів по Х-хромосомі з частотою $2,6 \times 10^{-4}$ – $4,3 \times 10^{-4}$ протягом двох поколінь. У концентрації 0,4 мкг/мл цей мутаген індукує появу з високою частотою змін у структурах головного мозку дрозофіли, які можуть виникати в різні періоди життя імаго (у 5-, 10- та 30-денному віці). Усім мутантним культурам з нейродегенеративними змінами мозку властиві швидке відмирання особин та знижені показники середньої тривалості життя.

Ключові слова: дрозофіла, нітрозоетилсечовина, домінантні летальні мутації, мутагенез, нейродегенерація.

Багато сучасних праць присвячено вивченню наслідків впливу різних хімічних факторів на живі об'єкти. Особливу увагу приділяють алкілувальним сполукам. Алкілувальні агенти є сильними мутагенами, оскільки спричинюють мутації майже у всіх організмах. Результатом дії алкілувальних мутагенів є заміна азотистих основ [1, 2, 3]. Вони можуть також зумовлювати різні хромосомні перебудови: великі і дрібні делеції, інверсії, транслокації та ін. [4]. Нітрозоетилсечовина (НЕС) та етилметансульфонат (ЕМС) є супермутагенами, оскільки мутації у випадку їхньої дії в різних тест-системах виникають з високою частотою. Г.Р. Щербата та Д.В. Максимів [5] довели, що НЕС індукує транспозиції МГЕ *copia* у генетично нестабільній лінії *white Drosophila melanogaster*. А. Пастнік зі співавторами [6] після впливу НЕС на дрозофілу проаналізували молекулярні механізми виникнення 36 мутацій у локусі *white* і довели, що більшість мутацій зумовлена замінами пар основ і перебудовами всередині гена розміром не більше 50-100 н.п. Мутагенну дію НЕС досліджували на ссавцях, зокрема, на мишах і хом'яках [7, 8, 9, 10]. З'я-

совано, що НЕС зумовлює збільшення кількості мутаційних подій у 10 разів порівняно зі спонтанним рівнем у соматичних (клітинах кісткового мозку) та генеративних (сперматозоїдах) клітинах мишей [7]. У деяких працях на мишах [11, 12, 13] доведена канцерогенна дія НЕС. Виявлено, що НЕС також має здатність індукувати утворення лімфом у людини [12].

Мутагенез алкілувальними сполуками дає перспективи для аналізу поведінкових мутацій та фізіологічних фенотипів хребетних, зумовлених генетичними змінами. Наприклад, сьогодні актуальні дослідження захворювань нервової системи людини, що зумовлені генетичними порушеннями. Тому важливими є дослідження, спрямовані на вивчення генів людини, які відповідають за формування структур нервової системи та їхнє функціонування. Зручним об'єктом для вивчення цієї проблеми є *Drosophila melanogaster*, у якої процеси диференціації і дегенерації нервової системи подібні до таких же процесів у ссавців, крім того, у неї висока гомологічність генів (до 70%), що контролюють нейродегенеративні зміни [14, 15]. Вивчення механізмів генетичних процесів можливе за наявності групи мутантів, у яких порушені досліджувані функції. Оптимальним підходом для отримання мутантів зі змінами структур головного мозку є застосування хімічних мутагенів, перш за все алкілувальних агентів, які здатні спричинювати точкові мутації в різних генах, в тому числі й тих, які відповідають за функціонування нервової системи.

Наша мета – дослідити вплив НЕС на індукцію домінантних летальних мутацій (ДЛМ) та частоту появи видимих мутантів по Х-хромосомі; отримати та проаналізувати індуковані НЕС мутанти по Х-хромосомі зі змінами структур головного мозку у *Drosophila melanogaster*.

У дослідженнях використано лінії *Drosophila melanogaster*: дикий тип *Oregon*; лабораторну лінію y^2w^{a4} з морфологічними маркерами по Х-хромосомі.

НЕС вносили в середовище для личинкового згодовування. Для обліку видимих мутацій в Х-хромосомі самців використовували самок лінії *C(1)DX*, yf зі зчепленими Х-хромосомами [16]. Тест на виявлення ДЛМ виконували згідно з працею [17]. Для отримання препаратів головного мозку досліджуваних культур дрозофіли виготовляли парафінові зрізи за методом, описаним у [18]. Побудову кривих виживання (КВ), аналіз середньої тривалості життя (СТЖ) і максимальної тривалості життя (МТЖ) проводили згідно з [19]. Дрозофіл утримували в темноті при температурі 25°C на стандартному поживному середовищі [20].

Для НЕС LD_{50} ми визначали у стабільної лабораторної лінії y^2w^{a4} . Для цього готували розчини таких концентрацій: 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 50,0; 100,0 мкг/мл, і згодовували личинкам. З'ясовано, що напівлетальною дозою НЕС для лінії y^2w^{a4} є концентрація 0,5 мкг/мл, яку ми й використали у подальшій роботі з цією лінією.

З метою дослідження впливу НЕС на ранні стадії онтогенезу дрозофіли виконано тест на ДЛМ, який дає змогу реєструвати як генні мутації, так і хромосомні аберації, враховувати частоту ранньої (РЕЗ) та пізньої ембріональної загибелі (ПЕЗ). У цьому разі домінантні мутації виявляються як у гомозиготному, так і в гетерозиготному станах, що дає змогу з високою точністю визначити кількість мутаційних пошкоджень геному (табл. 1). Як видно з даних табл. 1, у лінії y^2w^{a4} по-

казник частоти виникнення ДЛМ становив 3,97% і статистично не відрізнявся від такого значення для лінії дикого типу *Oregon* (3,74%). На підставі аналізу загальної частоти появи ДЛМ, індукованих НЕС, виявлено майже шестиразове збільшення цього показника (19,46%) порівняно з контролем. Таке збільшення відбувалося, головню, завдяки зростанню частоти РЕЗ (до 17,89%), тоді як частота ПЕЗ не перевищувала значень контролю і становила 1,58%. Отже, за наявності 0,5 мкг/мл НЕС виявлено значні порушення ембріогенезу дрозофіли, зумовлені високим порівняно з контролем показником виникнення ДЛМ.

Таблиця 1

Частота виникнення ДЛМ, індукованих НЕС (0,5 мкг/мл) у лінії y^2w^{a4} , %

Дослід	Частота			Коефіцієнт Стьюдента
	РЕЗ	ПЕЗ	ДЛМ	
<i>Oregon</i>	3,02	0,72	3,74	0,85
y^2w^{a4} (контроль)	2,06	1,91	3,97	
Y^2w^{a4} (НЕС)	17,89	1,58	19,46	26,16*

* $p \geq 0,95$ щодо контролю

У подальших експериментах досліджено вплив НЕС дозою LD_{50} на частоту появи видимих мутантів по Х-хромосомі у лінії y^2w^{a4} . Лінія y^2w^{a4} є стабільною лабораторною лінією, у якій частота появи мутантів становить $8,9 \times 10^{-5}$, що не перевищує значення природного рівня мутування. Серед 11 222 самців ми виявили одного мутанта по гену *yellow* ($y^2 \rightarrow y^+$). Унаслідок обробки личинок НЕС частота виникнення мутантів була на порядок вищою порівняно зі спонтанним рівнем. Наприклад, в F_1 частота мутування становила $2,6 \times 10^{-4}$, а в F_2 – $4,3 \times 10^{-4}$, що в 1,6 раза перевищувало показник першого покоління (табл. 2).

Таблиця 2

Частота появи та генотипи мутантів, отриманих при впливі НЕС (0,5 мкг/мл) на лінію y^2w^{a4}

Дослід	Покоління	Кількість проаналізованих самців	Генотип і кількість мутантів	Частота появи мутантів	t, коефіцієнт Стьюдента
y^2w^{a4} (контроль)		11222	1 y^+w^{a4}	$8,9 \times 10^{-5}$	
y^2w^{a4} (НЕС)	F_1	7497	1 y^1w^+		
			1 $y^2w^{a4}sc^1$	$2,7 \times 10^{-4}$	0,82
	F_2	2326	$y^2w^{a4}sc^1$	$4,3 \times 10^{-4}$	0,96

Надалі НЕС використано для індукції мутацій у Х-хромосомі, які б приводили до появи нейродегенеративних змін у структурах головного мозку дрозофіли. Мутаген вносили для личинкового згодювання лінії *Oregon* у різних концентраціях: 0,4; 2,0; 4,0 мкг/мл. З огляду на те, що сперматогенез у дрозофіли відбувається двома хвилями, схрещування проводили методом брудів, який дає змогу враховувати чутливість різних стадій сперматогенезу до дії мутагенного фактора. Для

одержання мутантних культур по X-хромосомі використовували самок музейної лінії FM4 (In(1)FM4/y^{31d}sc⁸dmB), яка містить велику інверсію та запирачі кросинговеру [20]. Мутантних самців схрещували з віргінільними самками FM4.

Таблиця 3

Результати індукції НЕС змін у структурі головного мозку в лінії *Oregon Drosophila melanogaster*

Концентрація НЕС, мкг/мл	Номер бруду	Кількість отриманих культур	Кількість гістологічних препаратів	Кількість препаратів зі змінами структур мозку	
				n	%
0,4	1	60	30	14	46,7
	2	20	15	2	13,3
	3	10	6	2	33,3
2	1	20	15	4	26,7
	2	6	5	1	20,0
	3	4	4	1	25,0
4	1	7	5	1	20,0
	2	3	2	0	0
	3	2	1	0	0

Оскільки нейродегенеративні зміни у головному мозку виникають, головно, протягом пізнього онтогенезу, то синхронізовані культури було поставлено на старіння і виготовлено гістологічні препарати з мозку 30-денних імаго. Серед 132 отриманих індивідуальних культур виявлено 25 культур зі змінами структур головного мозку (табл. 3). Як видно з табл. 3, оптимальною в наших експериментах була концентрація 0,4 мкг/мл. Наприклад, у бруді при затравці цією концентрацією отримано 14 культур зі змінами в мозковій тканині, у другому і третьому – по дві, тоді як при концентрації 2 мкг/мл отримано в першому бруді 4, а в другому та третьому - по одній культурі зі змінами структур мозку. За концентрації 4 мкг/мл одержано всього 12 культур, з яких в однієї виявлено нейродегенеративні зміни (за даними першого бруду). Зазначимо, що збільшення концентрації мутагену не сприяло збільшенню частоти появи мутантів зі змінами структур мозку. На підставі даних табл. 3 можна зробити висновок, що найчутливішими до дії мутагену є сперматогонії та ранні сперматоцити, оскільки найбільшу кількість пошкоджень зареєстровано за даними першого бруду. Для підтвердження отриманих даних і усунення артефактів у подальших дослідженнях культури були повторно синхронізовані, поставлені на старіння і з мозку імаго були виготовлені гістологічні препарати. Зміни підтвердилися в 17 із 25 відібраних культур.

У літературі [22, 23, 24] описані мутації, які призводять до появи нейродегенеративних змін у структурах мозку дрозофіли в процесі старіння. Доведено [22], що у мутантів *swiss cheese (sws)* мозкові дефекти виявляються у формуванні ваку-

олей у всіх мозкових структурах. Ген *swiss cheese* локалізований у Х-хромосомі в районі 7D-1. Автори припускають, що продукт цього гена регулює гліальне обгортання нейронів, а мутація *sws* призводить до гіпермієлінізації. Друга досліджена нейродегенеративна мутація *Vacuolar medulla (Vam)* спричинює дегенерацію клітин глії, що веде до відмирання відповідних нейронів і формування вакуолей в окремих структурах головного мозку, зокрема в медулі [24]. У гомозигот *Vam/Vam* вакуолізація мозку постępuje вже через 5 хв. після вилуплення. Серйозні поведінкові дефекти і дегенерація мозку, що виявляються через кілька днів після вильоту імаго, зумовлені Х-зчепленою рецесивною мутацією *drop-dead* [23]. Унаслідок дослідження мозку дорослих мутантів виявлено, що багато гліальних клітин мають вкорочені відростки, тоді як морфологія нейрона є, головно, нормальною.

Таблиця 4

Групи мутантів за характером змін у структурі головного мозку дрозофіли

Код лінії	Характер змін
9.1.1, 33.1, 4.1.1, 5.1.1, 50.1.1	Дрібні вакуолі по всій структурі мозку медулі
17.1.1, 45.1.1, 60.1.1	Поодинокі вакуолі по всій структурі мозку і великих розмірів
31.3.2, 58.3.4, 102.3.4	Поодинокі великі вакуолі в різних ділянках головного мозку

Отримані мутантні лінії були згруповані за характером розташування і розміром вакуолей, що виникли у головному мозку дрозофіли (табл. 4, рис. 1, *a-c*).

З літератури відомо [23, 24] про різний час появи змін структур мозку протягом онтогенезу. Тому ми проаналізували виникнення таких змін у 5- та 10-денних мутантних особин. Дані наведені в табл. 5. З табл. 5 видно, що у ліній 5.1.1, 17.1.1, 31.3.2, 102.3.4 зміни відбуваються вже на п'ятий день після вильоту імаго і зберігаються у 10- та 30-денному віці. У ліній 4.1.1, 9.1.1, 45.1.1 поодинокі вакуолі починають виникати у 10-денному віці. В особин ліній 33.1.1, 50.1.1, 60.1.1, 58.3.4 структурні зміни головного мозку з'являються лише на пізніх стадіях онтогенезу.

Відомо [22], що нейродегенеративні зміни спричиняють прискорений процес старіння. Тому цікаво було виявити кореляцію між часом появи змін і параметрами середньої тривалості життя мутантних ліній. Ми побудували криві виживання та проаналізували середню і максимальну тривалість життя мутантних ліній (табл. 6, рис. 2, *a, б*). Контролем слугувала КВ лінії дикого типу *Oregon*, параметри якої прийнято за нормальну диманіку старіння дрозофіли. Протягом 30 днів чисельність мух на КВ перевищувала 90%; з 30-го дня зафіксовано спад кривої, який свідчив про інтенсивне відмирання особин. Значення S_{75} і S_{50} становили 42 і 48 днів, відповідно; 25% живих мух було на 50-й день. Максимальна тривалість життя дорівнювала 55 днів.

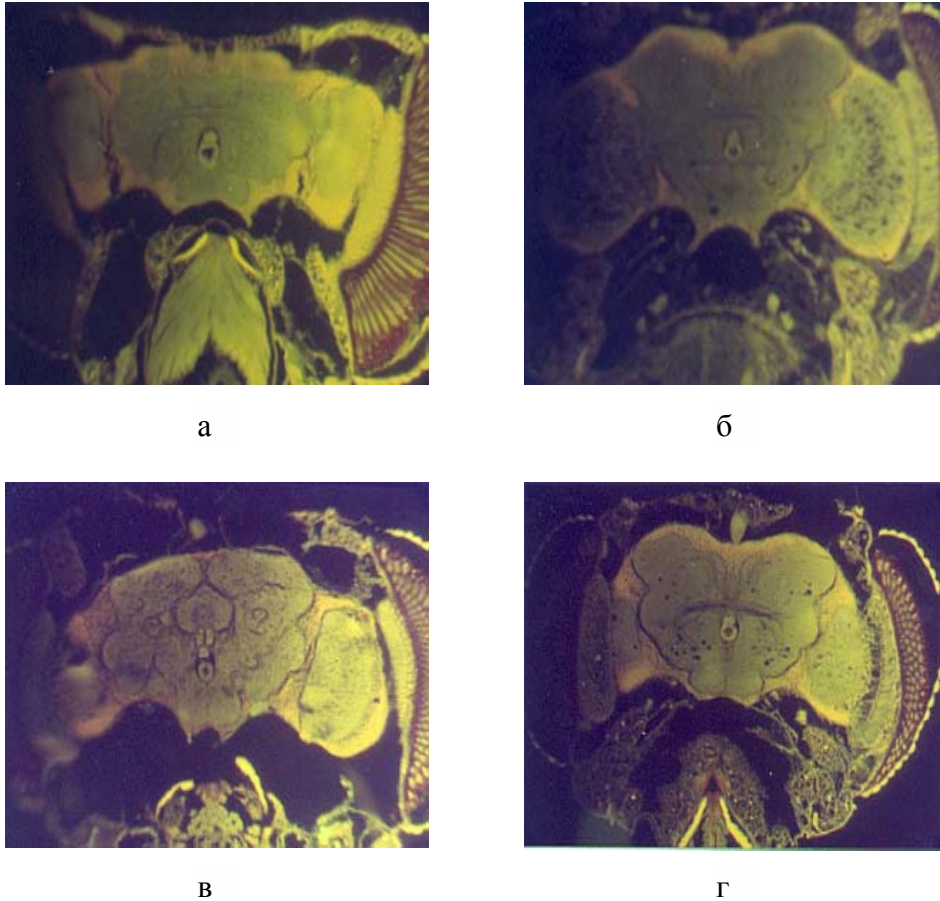


Рис. 1 Фотографії зрізів головного мозку дрозофіли ліній: а – *Oregon*; б – 17.1.1; в – 9.1.1; г – 31.3.2.

Група ліній 58.3.4, 59.1.1, 50.1.1, 60.1.1, 33.1.1, 5.1.1 (рис. 2, а) мала знижені показники середньої тривалості життя, такі особини швидко відмирали. Наприклад, особини лінії 59.1.1 починали відмирати вже на сьомий день від початку вильоту імаго: значення S_{75} становило 31 день. Максимальна тривалість життя цієї групи ліній не була нижчою від МТЖ контрольної лінії і досягала 51-60 днів.

Для другої групи ліній 102.3.4, 45.1.1, 17.1.1, 10.1.1, 31.3.2 (рис. 2, б) був характерний різкий спад кривої виживання після десяти днів життя імаго і значно знижена порівняно з попередньою групою і з лінією *Oregon* максимальна тривалість життя (39-43 дні). У мутантних ліній 17.1.1, 31.3.2, 102.3.4, у яких зміни в тканині мозку виникали на п'ятий день після вильоту, простежувалось зниження всіх параметрів середньої і максимальної тривалості життя. У ліній, в яких нейроде-

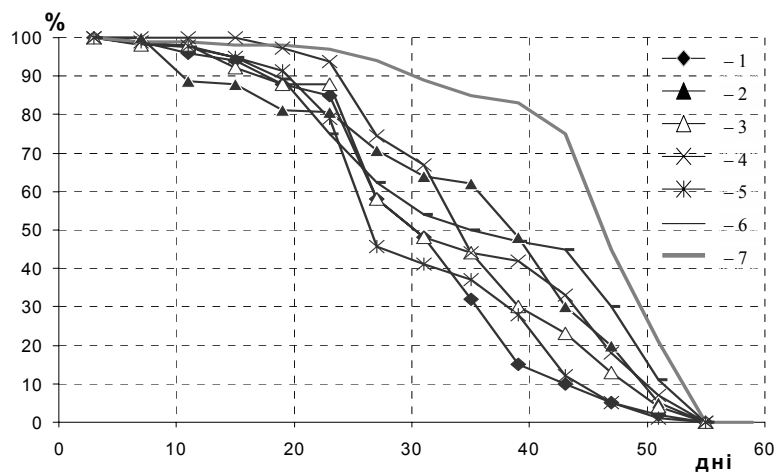


Рис. 2. Криві виживання мутантних ліній дрозофіли зі змінами структур мозку: 1 – 58.3.4; 2 – 59.1.1; 3 – 50.1.1; 4 – 60.1.1; 5 – 33.1.1; 6 – 5.1.1; 7 – *Oregon*.

генеративні зміни починалися на десятий день життя імаго (4.1.1, 9.1.1, 45.1.1), характер кривої виживання та параметри тривалості життя такі ж, як і в ліній, у яких зміни в структурах мозку з'являлись у пізньому онтогенезі.

Таблиця 5

Динаміка виникнення індукованих НЕС змін у структурах головного мозку лінії *Oregon Drosophila melanogaster*

Код лінії	Вік імаго, дні	
	5	10
4.1.1	-	+
5.1.1	+	+
9.1.1	-	+
17.1.1	+	+
33.1.1	-	-
45.1.1	-	+
50.1.1	-	-
60.1.1	-	-
31.3.2	+	+
58.3.4	+	-
102.3.4	+	+

Таблиця 6
 Параметри тривалості життя мутантних ліній *Drosophila melanogaster* зі змінами структур головного мозку

Код лінії	Середня тривалість життя			Максимальна тривалість життя
	S ₇₅	S ₅₀	S ₂₅	
58.3.4	19	27	43	51
59.1.1	31	45	54	55
50.1.1	31	41	50	55
60.1.1	39	45	53	55
33.1.1	25	37	46	55
5.1.1	23	51	58	60
9.1.1	24	26	32	39
102.3.4	24	24	32	39
45.1.1	27	34	41	43
17.1.1	27	37	40	43
10.1.1	30	36	40	42
31.3.2	32	33	37	39
Oregon	42	48	50	55

Отже, ми довели, що НЕС у концентрації 0,5 мкг/мл (LD_{50}) індукує у лінії y^2w^{a4} *Drosophila melanogaster* зростання частоти виникнення домінантних летальних мутацій. Таке збільшення зумовлене, головню, збільшенням показника РЕЗ, а це свідчить, що ранні стадії ембріогенезу дрозофіли є найчутливішими до впливу цього алкілувального агента. НЕС у цій дозі зумовлює виникнення видимих мутацій по Х-хромосомі з частотою $2,6-4,3 \times 10^{-4}$ у стабільної лінії y^2w^{a4} протягом двох поколінь, виявляючи пролонгований мутагенний ефект. У концентрації 0,4 мкг/мл цей мутаген індукує появу з високою частотою змін у структурах головного мозку дрозофіли, які виникають у різні періоди життя імаго (у 5-, 10- та 30-денних особин). Усім мутантним культурам з нейродегенеративними змінами мозку властиве швидке відмирання особин та знижені показники середньої тривалості життя.

1. Гершензон С.М. Мутации. К.: Наук. думка, 1991. 418 с.
2. Щварцман П.Я., Ромашина Т.Б. Материнское влияние мутагенчувствительной мутации $tus(2)201^{G1}$ на индуцированный этиленмином и метилметансульфонатом мутагенез в геноме сперматозоидов *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1995. №2. С. 205-208.
3. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. М.: Мир, 1998. Т. 1. С. 373.
4. Смирнова В.А., Державец Е.М. Характер спонтанного и индуцированного мутагенеза в генетически нестабильной мутантной линии *D. melanogaster* // Биолог. Науки. 1991. №3. С. 347-361.

5. Щербата Г.Р., Максимив Д.В. Молекулярно-генетическая природа мутаций по локусу white, индуцированных химическими веществами у *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1997. Т. 33. №1. С. 19-24.
6. Pastnik A., Vreeken C., Vogel E.W. The nature of N-ethyl-N-nitrosourea induced mutations at the white locus of *Drosophila melanogaster* // Mutat. Res. 1988. Vol. 199. №1. P. 47-53.
7. Rinchik E.M., Carpenter D.A., Selby P.B. A strategy for fine-structure functional analysis of a 6-to 11-centimorgan region of mouse chromosome 7 by high-efficiency mutagenesis // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1990. Vol. 87. P. 896-900.
8. Buzard G., Enomoto T., Perantoli A. et al. Neu-mutation in schamomas induced transplacentally in Syrian golden hamsters by N-nitrosoethylurea: high incidence but low allelic representation // Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 1999. Vol. 125. Is. 10. P. 529-540.
9. Rinchik E.M. Chemical mutagenesis and fine-structure functional analysis of the mouse genome // Trends Genet. 1991. Vol. 7. P. 15-21.
10. Itoh S., Miura M., Shimada H. Lack mutagenicity of levofloxacin in lacZ transgenic mice // Mutagenesis. 1998. Vol. 13. P. 51-55.
11. Dobrovolsky V.N., Casciano D.A., Heflich R.H. Mouse tk+/- model for in vivo mutagenicity study // Science Forum Poster Abstracts. FDA. 1997. Abstract b 32. P. 89.
12. Hems Anton J.M. et al. Methods for determining oncogenic potential of chemical compounds. // GenPharm. International, Inc. 1992. Vol. 29. P. 5, 174, 986.
13. Kessel M., Gruss P. Murine developmental control genes // Science. 1990. Vol. 249. P. 374-379.
14. Hayasaka K., Himoro M., Sato W. et al. Charcot-Marie-Tooth neuropathy type-1b is associated with mutations of the myelin-P(0) gene // Nat. Genet. 1993. Vol. 5. P. 31-34.
15. Ferrus A. Neurogenetics of *Drosophila* // Discussion in Neuroscience. 1992. Vol. 9. №1. P. 11-52.
16. Медведев В.П. Практическая генетика. М.: Наука, 1968. 294 с.
17. Вампи К.В., Джапаридзе Л.А. Сравнительное изучение мутабельности особей разных полов: РСПЛ и ДЛМ у *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1980. №8. С. 1389-1395.
18. Lints F.A., Stoll J., Gruzer G. et al. An attempt to select for increased longevity in *Drosophila melanogaster* // Gerontology (Schweiz). 1979. Vol. 25. №4. P. 192-204.
19. Bergoffen J., Wang S., Scott M.O., et al. Connexin mutations in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease // Science. 1993. Vol. 262. P. 2039-2042.
20. Ashburner M. *Drosophila*. A laboratory handbook // Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY USA. 1989. Vol. 1331.

21. Tosal I., Comendados M., Sierra L. N-ethyl-N-nitrosourea predominantly induces mutations at the AT base pairs in pre-meiotic germ cells of *Drosophila males* // *Mutagenesis*. 1998. Vol. 13. P. 375-380.
22. Kretschmar D., Hasan G., Heisenberg M., Benzer S. The swiss cheese mutant glial hyperwrapping and brain degeneration in *Drosophila* // *The Journal of Neuroscience*. 1997. Vol. 17. № 19. P. 7425-7432.
23. Buchanan R.L., Benzer S. Defective glia in the *Drosophila* brain degeneration mutant drop-dead // *Neuron*. 1993. Vol. 10. P. 839-859.
24. Coombe P.E., Heisenberg M. The structural brain mutant Vacuolar medulla of *Drosophila melanogaster* with specific behavioral defects and cell degeneration in the adult // *Neurogenetics*. 1986. Vol. 3. P. 135-158.

INDUCTION OF DOMINANT LETHAL MUTATIONS AND X-LINKED VISIBLE MUTATIONS BY NITROSOETHYL UREA IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

N. Holub, I. Kozarevska, Ya. Chernyk

Ivan Franko National University of L'viv,
Hrushevskogo St. 4, L'viv 79005, Ukraine,
e-mail: holub_74@yahoo.com

The influence of nitrosoethylurea (ENU) on induction of dominant lethal mutations (DLM), appearance of visible mutants and mutants with changes in brain structures linked to X-chromosome of *Drosophila melanogaster* have been investigated. It was shown that ENU in dose of 0,5 mg/ml (LD_{50} for laboratory strain y^2w^{a4}) leads to 6 times increasing the frequency of DLM appearance comparing with control. This concentration of ENU causes the appearance of visible mutants in X-chromosome with $2,6 \times 10^{-4}$ - $4,3 \times 10^{-4}$ frequency within two generations. In concentration 0,4 mg/ml mutagen induces the high frequency of changes in brain structures of *Drosophila* which appear in different periods of imago life (in the age of 5, 10 and 30 days). All mutants cultures with neurodegenerative brain changes are characterized by flies rapid dying off and reduced indexes of average life span.

Key words: *drosophila*, nitrosoethylurea, DLM, mutagenesis, neurodegeneration.

Стаття надійшла до редколегії 25.12.2001

Прийнята до друку 01.02.2002