



БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



ИЗМЕНЕНИЯ В ПРОФИЛЯХ ЭКСПРЕССИИ РЯДА ГЕНОВ У ЛИЧИНОК КОМНАТНОЙ МУХИ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭКЗОГЕННОГО 20-ГИДРОКСИЭКДИЗОНА И ТЕПЛООВОГО СТРЕССА

Никоноров Ю.М., Ахметкиреева Т.Т., Беньковская Г.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Россия, Уфа

Резюме

Анализ изменений транскрипционной активности некоторых генов в покровно-мышечных тканях личинок комнатной мухи III возраста при тепловом стрессе и после обработки экдистероном в низкой концентрации выявил наличие особенностей в механизмах реализации ответа на стрессовые воздействия у особей из инбредных линий, различающихся по срокам массовой репродукции и продолжительности жизни. По способности организма к восстановлению исходных параметров, к которым можно отнести и содержание мРНК конкретных генов из определенных генных ансамблей, представляется возможным оценивать силу и длительность стрессовых воздействий и адекватность защитных реакций. Особенности динамики изменений в ответ на стрессовое воздействие могут оказаться характерными для данной популяции. Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-04801-а

Ключевые слова: стресс, транскриптом, продолжительность жизни, комнатная муха, 20-гидрооксиэкдизон

Введение

Поддержание организма в устойчивом состоянии равновесия при его взаимодействии с изменчивой средой требует согласованного функционирования всех его систем. Превышение порогов изменения параметров внешней среды, выходящее за пределы адаптивных возможностей организма, приводит к развитию стрессовой реакции, целью которой является мобилизация всех его ресурсов, обеспечивающая переживание неблагоприятных условий с наименьшими потерями [1]. Отдельные организмы отвечают на внешнее воздействие перестройкой жизнедеятельности, на клеточном уровне проявляющейся в изменениях профилей экспрессии большинства генов, синтезе специфических белков и передвижении мобильных элементов их геномов, а в популяциях происходят сложные структурные преобразования в силу наличия исходного полиморфизма особей по их приспособленности. В тех случаях, когда сила таких воздействий не превышает обычных порогов, они вполне могут оказать влияние на приспособленность организма, вызывая отсроченные фенотипические проявления, особенно если воздействие пришлось на период онтогенеза с повышенной чувствительностью. В задачи наших

исследований входило установление характера реакций личинок комнатной мухи на кратковременное воздействие повышенной температуры и эффективной дозы 20-гидроксиэкдизона (экдистерона, 20-ГЭ), исследование динамики изменений профилей экспрессии ряда генов из различных ансамблей с определенными функциями непосредственно после обработки, а так же и оценка срочных и отдаленных эффектов теплового стресса (ТС), отразившихся на демографических показателях линий.

Материалы и методы

Поддержание культуры комнатной мухи. Развитие от яиц до выхода из пупариев имаго проходило в среде из увлажненных отрубей, взрослые особи содержались в капроновых садках с металлическим каркасом, корм (сухая молочная смесь) и вода были доступны *ad libitum*, как было описано ранее [2, 25]. Весь цикл развития проходил при комнатной температуре, с сезонными колебаниями от 20 - 26°C и комбинированном освещении (естественное освещение плюс электрическое) с периодом день/ночь 12:12 ч.

Создание инбредных линий. В качестве объекта исследований была выбрана лабораторная

линия *S*, производная линии *Cooper* [2]. В результате отбора на раннее и позднее репродуктивное усилие с использованием массовой селекции были сформированы гетерогенные линии *Shgen* и *Lgen*, достоверно различающиеся по продолжительности жизни. На основе этих линий путем индивидуального отбора (потомство от одной пары особей) созданы инбредные линии *Sh28* и *L2*. Максимальная продолжительность жизни в 30-м поколении для них составила, соответственно, 38 и 68 сут [3].

Определение показателей приспособленности. В процессе эксперимента регистрировался комплекс показателей, характеризующих приспособленность [4]. Варианты экспериментов выполнялись в 3-х повторностях по 30 особей в каждой. Достоверность различия средних значений определяли по *t*-критерию Стьюдента.

Обработка личинок 20-гидроксиэктодиеном (20-E) и тепловой шок. За 1 час до экспозиции при повышенной температуре часть личинок 3 возраста из линий *Sh28* и *L2* помещали в чашки Петри с фильтрами, импрегнированными водным раствором 20-E ($2 \cdot 10^{-7}$ М, 0.5 мл на фильтр, 2 фильтра на чашку) по 20 особей в 3-х кратной повторности. В контрольном варианте фильтры импрегнировали водой. Через час половину личинок в контрольном варианте и в варианте с 20-E подвергали тепловому стрессу (+40°C, 10 min, термостат «Термит») в индивидуальных пробирках Эппендорф. Через 30 мин после завершения экспозиции во всех вариантах были отобраны по 2 повторности (по 3 личинки) для определения уровня экспрессии генов по содержанию РНК. При выделении РНК перед гомогенизацией у личинок полностью удаляли все внутренние органы, оставляя только покровно-мышечные ткани. Остальные личинки были пересажены в субстрат для дальнейшего развития. Наблюдения продолжались вплоть до вылета имаго и смерти последней взрослой особи.

Выделение РНК и конверсия ее в кДНК. Тотальную РНК выделяли с помощью набора РНК-Экстран («Синтол», Россия), содержащего реагент Trizol. Примерно 50 мг материала гомогенизировали стеклянным пестиком в 1.5 мл пробирках с добавлением 300 мкл лизирующего буфера и далее выделение проводилось по соответствующему протоколу. Конверсию РНК в реакции с обратной транскриптазой (построение кДНК) осуществляли с использованием набора той же фирмы. Реакционная смесь общим объемом 25 мкл содержала смесь всех четырех дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (250 мкмоль каждого из дНТФ), 5 единиц обратной транскриптазы М-MLV, 10 единиц ингибитора РНК-аз, около 3 мг тотальной РНК и 300 нмоль олиго-дТ

(Т18) или 600 нмоль случайного праймера (N6). Предварительно смесь прогревали до 65°C (2 мин), затем инкубировали при 42°C в течении 60 мин. Для инактивации обратной транскриптазы использовали прогревание при 70°C в течении 15 мин.

Анализ экспрессии генов. Последовательности генов *18S pPHK*, *rp49*, *act*, *cytb5*, *coIII*, *hsp70*, *hem*, *odc*, *Vssc1*, *cup* комнатной мухи *M. domestica*, использованных при подборе праймеров для количественной ПЦР, были взяты нами из библиотеки GenBank (NCBI, США) соответственно под номерами DQ133074, EU076973, JN969088, EU154477, GU289399, L34807, AF411043, X96668, AF064794. Количественную ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей интеркалирующий краситель SYBR Green I, в пробирках объемом 0,2 мл на термоциклере RotorGene6000 (Corbett Research, Австралия). Состав реакционной смеси: 1х ПЦР-буфер, 250 мкмоль каждого из дНТФ, по 300 нмоль прямого и обратного праймеров, подобранных с помощью пакета программ Lasergene (DNASTAR, США). Для анализа относительного уровня экспрессии генов применяли $2^{-\Delta\Delta CT}$ метод [5]. В качестве референсного использовался ген актина (*act*) *M. domestica*, относительно мРНК которого рассчитывалось содержание РНК исследуемых генов.

Результаты и обсуждение

Особенностью онтогенеза насекомых с полным превращением является наличие метаморфоза как при переходе от личиночной стадии к куколочной, так и от куколки к имаго, а также многократных линек на стадии личинки. Регуляция переходных процессов осуществляется, главным образом, под контролем гормона экдистерона, одного из представителей обширной группы природных соединений, объединенных под названием экдистероиды [6]. Титры эндогенных экдистероидов существенно меняются в онтогенезе, особенно заметны высокие пики их содержания у Muscidae в личиночном возрасте и их резкое снижение за 25-30 часов до начала образования пупария [7]. Введение экзогенных экдистероидов в этот период, так же как и другие воздействия, влекущие за собой повышение титра экдистерона, приводит к максимальному проявлению биологических эффектов его действия [8]. Наличие у экдистероидов стресс- и геропротекторных свойств делает перспективным использование их синтетических и растительных аналогов, фитоэкдистероидов, в медицине и сельском хозяйстве [9].

Кратковременное воздействие повышенной температуры, или тепловой шок, а также реакция на

него, хит-шок ответ, являются наиболее популярными при изучении механизмов реализации стресс-реакции клетки. Для теплового стресса описаны основные стадии развития стресс-реакции, а наиболее ярким ее проявлением на клеточном уровне является прекращение синтеза основной массы клеточных белков и индукция синтеза ограниченного набора белковых молекул, названных белками теплового шока (БТШ или HSP). Однако такой ответ клетки не является специфичным только для теплового шока и практически любое внешнее воздействие вызывает синтез БТШ [10]. Заблаговременный синтез БТШ в результате предварительного воздействия средней силы увеличивает выживаемость организмов в условиях последующего жесткого стресса [11]. В значительной мере «наведенная» термотолерантность связана с повышенной экспрессией генов, отвечающих за синтез белка *hsp70* и других БТШ, являющихся молекулярными шаперонами, основная роль которых заключается в обеспечении правильного фолдинга белков [12].

Одним из неблагоприятных последствий теплового шока является возрастание частоты инсерционного (делеционного) мутагенеза, вызванного размножением и передвижением по геному его мобильных элементов (МГЭ) [13, 14]. При очевидной угрозе накопления вредных мутаций и возможной передачи их потомству через генеративные клетки, транспозиции мобильных генетических элементов крайне мутагенны и токсичны для соматических клеток. К примеру,

соматически активные ДНК транспозоны значительно снижают продолжительность жизни, половую и физическую активность дрозофил, поскольку репарация брешей в ДНК после их эксцизии возможна только при мейотическом делении клеток [15]. Очевидный токсический эффект от усиленного размножения транспозонов позволил предположить их участие в процессах старения наряду с другими видами стресса [16]. Наиболее характерным для комнатной мухи и в то же время хорошо изученным является ДНК-транспозон *Hermes*, который относится к мобильным элементам II класса и впервые найден именно в геноме *Musca domestica* [17, 18].

В связи с вышеизложенным, основное внимание в нашей работе мы уделили исследованию возможного влияния предварительной обработки экзогенным экистероном на силу и продолжительность стресса при кратковременном воздействии повышенной температуры. Мы регистрировали как отдаленные эффекты последствия теплового шока, выразившиеся в конкретных цифрах выживаемости на двух последовательных стадиях метаморфоза, так и срочный эффект в виде изменения относительного содержания молекул мРНК некоторых генов с известными функциями. В частности, особое внимание было обращено на изменения в содержании мРНК генов БТШ-70 (*hsp70*) и гена транспозазы транспозона *Hermes* (*hem*).

Таблица 1. Влияние теплового стресса на выживание на преимагинальных стадиях развития в линиях комнатной мухи и эффект предварительного действия 20-ГЭ

Варианты	<i>Sh28</i>		<i>L2</i>	
	Живые пупарии, % от числа личинок	Живые имаго, % от числа пупариев	Живые пупарии, % от числа личинок	Живые имаго, % от числа пупариев
Контроль	95,0 ± 5,0	37,2 ± 7,0	50,0 ± 6,4	40,0 ± 5,3
Экспозиция с 20-ГЭ	50,0 ± 3,4	60,0 ± 2,8	30,0 ± 2,9	0
ТС	100	20,0 ± 1,9	30,0 ± 2,5	33,3 ± 1,3
ТС после экспозиции	100	40,1 ± 0,5	20,0 ± 1,9	0
ТС перед экспозицией	70,0 ± 3,6	42,9 ± 5,4	100	60,0 ± 4,7

Несколько неожиданным результатом экспериментов по обработке 20-ГЭ личинок 3-го возраста явилась повышенная чувствительность к нему у особей из выбранных нами линий *Sh28* и *L2*, что проявилось в повышении преимагинальной смертности для обеих инбредных линий (Табл. 1). Не оказав видимого действия непосредственно на сами личинки, экзогенный 20-ГЭ и тепловой стресс по отдельности повысили смертность обработанных особей на личиночно-куколичной и куколично-

имагинальной стадиях метаморфоза с характерным распределением потерь в генерации для указанных линий. Более сложная ситуация возникла при комбинировании этих двух видов обработок: заметная компенсация вредного эффекта от одного из типов воздействий другим, выразившейся в снижении суммарной смертности, была отмечена для линии *Sh28* в комбинации «тепловой стресс после обработки 20-ГЭ». А вот для линии *L2* ситуация прямо противоположная – «тепловой стресс перед

обработкой», несомненно, полностью предотвратил безусловно вредное, в данном случае, влияние экзогенного 20-ГЭ, проявившегося в полной гибели обработанных особей на последующих стадиях онтогенеза. Возможно, что определяющим для получения подобного результата является выбор момента для обработок личиночной стадии непосредственно перед личиночно-куколичным метаморфозом, ранее охарактеризованным для комнатной мухи как период онтогенеза с повышенной чувствительностью. Именно на этот период приходится минимум содержания экдистерона в клетках [7, 19].

Фатальные для линии *L2* изменения в гормональном балансе за счет экзогенного 20-ГЭ, по всей видимости, были предопределены наличием значительно более низкого базового титра эндогенных экдистероидов на этой стадии онтогенеза, по сравнению с линией *Sh28*. Массированная инициация экдистероном генов, продукты которых на данный момент не востребованы, или наоборот, ингибирование по принципу обратной связи критических генов, может оказывать неблагоприятное действие на работу механизмов жизнеобеспечения клетки.

Условия теплового стресса были ранее подобраны на личинках и имаго этих линий так, чтобы он не оказывал видимого эффекта на их жизнеспособность и не снижал общую продолжительность жизни. Однако при использовании ТС на выбранной нами стадии онтогенеза, как и в случае с 20-ГЭ, выявились негативные эффекты в виде повышения смертности при прохождении последующих стадий метаморфоза. Для линии *L2* эти потери оказались значительно выше, чем для линии *Sh28* (лишь 10% и 20%, соответственно, доживших до стадии имаго особей). Сложный характер взаимодействия двух действующих факторов, повышенной температуры и экзогенного 20-ГЭ, проявился при изменении в их чередовании. Связано это и в том числе, с различиями в реализации клеточного ответа на эти два типа воздействий. При воздействии 20-ГЭ индуцируется и ряд локусов, ответственных за синтез БТШ [20]. А вот в результате повышения температуры блокируется транскрипция во всех экдизоновых пуффах, хотя рецепторный аппарат остается при этом неповрежденным и при последующей обработке экдизоном первыми активируются именно экдизоновые пуффы [21].

Результаты эксперимента (Табл.1) позволяют констатировать у лабораторных линий *Sh28* и *L2* наличие особенностей в механизмах реализации ответа на стрессовые воздействия. Ранее было показано, что у этих линий, сформированных

путем селекции на продолжительность жизни и сроки начала репродуктивной активности, за несколько десятков поколений селекции изменились все показатели жизнеспособности и репродуктивного потенциала по сравнению с исходной линией [22]. Существенные отличия между линиями *Sh28* и *L2* проявились и в различной динамике профилей экспрессии ряда исследованных генов непосредственно после стрессовых воздействий. (Рис 1.). Для нормализации результатов количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ, qRT-PCR) необходимо рассчитывать уровень мРНК исследуемых генов относительно внутреннего контроля, в качестве которого обычно используются так называемые «гены домашнего хозяйства» (house-keeping genes, НКГs), характеризующиеся стабильным уровнем экспрессии. В наших экспериментах в качестве референсного использовался ген актина (*act*) *M. domestica*, хотя рядом исследователей отмечается большая предпочтительность использования в качестве контроля таких генов, как *RP49* (рибосомный белок) или *1 α -EF1 α* (фактор элонгации транскрипции), и не рекомендуется использовать гены глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы *GAPDH* и тубулина *TUB* [23, 24]. Еще одним принципиальным моментом является выбор временного интервала после обработки для выделения РНК, и соответственно для определения динамики изменений в ее составе. Как видно из рис. 1В, содержание мРНК гена орнитин-декарбоксилазы (*odc*), через 30 мин после ТС находится практически на контрольном уровне у личинок обеих исследуемых линий. Т.о., этого времени достаточно для восстановления исходного состояния и клеток отдельных тканей и возможно, организма в целом, если последствия стресса являются обратимыми, как в случае с тепловым стрессом. Орнитиндекарбоксилаза — фермент, катализирующий образование полиамина путресцина во многих эукариотических клетках — характеризуется быстрой индукцией транскрипции и очень коротким временем полусуществования ее мРНК (содержание мРНК может меняться более чем в 200 раз в течение 1-2 мин после индукции). А вот в вариантах с применением 20-ГЭ содержание мРНК гена *odc* в мышечных клетках личинок мух из линии *Sh28* остается повышенным, а в линии *L2* — пониженным по сравнению с контролем, что характеризует экзогенный 20-ГЭ как фактор продолжительного действия. Реабилитация после обработки 20-ГЭ требует значительно большего времени по сравнению с ТС. Для обработанных личинок линии *L2*, даже не достигших стадии имаго, видимо, это оказалось вообще невозможным.

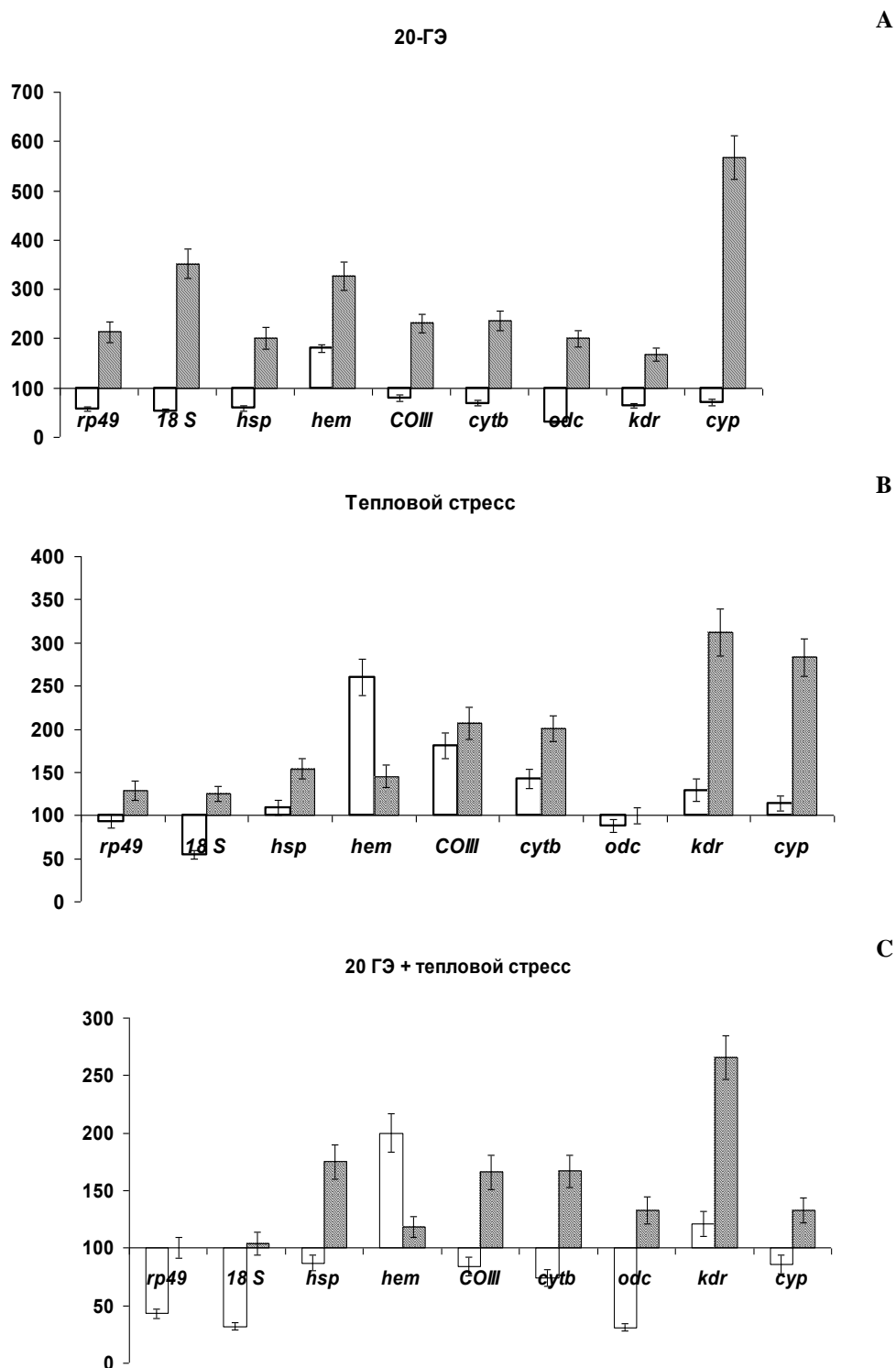


Рисунок 1. Профили транскрипционной активности ряда генов в соматических тканях у личинок комнатной мухи при тепловом стрессе и предварительном воздействии 20-ГЭ.

Светлые столбики – линия L2; заштрихованные – линия Sh 28.

В целом, из рис. 1А видно, что линии *Sh28* и *L2* принципиально различаются по характеру ответа на обработку 20-ГЭ – наблюдается повышенное по сравнению с контролем содержание РНК всех исследуемых генов у линии *Sh28* и пониженный уровень РНК почти всех генов в линии *L2*. Единственное исключение представляет ген транспозазы ДНК-содержащего транспозона *Hermes (hem)* – содержание его мРНК увеличивается по сравнению с контролем во всех вариантах стрессовых воздействий в обеих линиях. Различия в ответе на тепловое воздействие между линиями не так выражены при обработке 20-ГЭ, однако и в этом случае относительные изменения в содержании РНК более выражены для линии *Sh28* (Рис. 1В). Наблюдается повышение относительного содержания митохондриальных мРНК (гены *cytb* и *COIII*), что, возможно, проявляется как следствие блокирования при ТС транскрипции генов, кодируемых ядерным геномом. Вполне закономерным является и повышение относительного содержания мРНК гена *hsp*, кодирующего белок теплового шока БТШ-70 (*Hsp70*), хотя и не более, чем в 2 раза. При выходе из состояния теплового стресса, а 30 мин, видимо вполне достаточно для этого, происходит деаденилирование и последующая деградация избытка мРНК, что быстро приводит их содержание к нормальному уровню [25, 26].

Содержание мРНК гена *Vssc1 (kdr)* увеличивается в ответ на повышение температуры. Для линии *Sh28* это увеличение почти 3-х кратное, тогда как в линии *L2* оно не достигает и 30% от контрольного уровня. Подобные различия могут обуславливать различную чувствительность личинок мух из этих линий к пиретроидам, для которых показана отрицательная корреляция их эффективности с повышением температуры [27].

Цитохром P450 направляемая детоксикация ксенобиотиков является одним из основных механизмов устойчивости к пестицидам и колебания в содержании его мРНК вследствие ингибирования или индукции гена *сур* в ответ на повышение температуры также могут определять резистентность к ним [28]. Полярность реакций на стрессовые воздействия в линиях *Sh28* и *L2* с наибольшей силой демонстрируется именно в случае с поведением гена *сур* (Рис. 1А, В, С). Слабая ответная реакция на воздействие в линии *L2* и одновременно повышение содержания мРНК *сур* в 2,5-6 раз, в зависимости от вида стресса, отмечены для линии *Sh28*. Показательным является антагонистическое действие различных видов стрессов при их комбинировании на содержание мРНК гена *сур* у особей из линии *Sh28*.

Заключение

Результаты взаимодействия организма и внешней среды часто проявляются в форме стресс-реакции, биологический смысл которой выражается в виде последовательных процессов, конечной целью которых является создание внутренних условий для скорейшей адаптации организма к изменившимся внешним условиям.

Как правило, природные популяции часто подвергаются одновременному воздействию двух и более видов стрессогенных факторов, или же очередное воздействие происходит на фоне отсроченной реакции на предыдущее воздействие. Результат не всегда предсказуем, он определяется как интегральная сумма реакций отдельных организмов. Если генетическое разнообразие популяции достаточно велико (в нашем случае лабораторные линии *Sh28* и *L2* имитировали некие крайние варианты природной популяции), то в ней почти наверняка найдутся особи с полярным характером ответа на внешнее воздействие. И если для части популяции этот стресс может иметь фатальные последствия, то для другой он может оказаться нейтральным или даже оказать положительный эффект, повысив выживаемость. Еще более вариативными являются последствия стрессов при их комбинировании, что может иметь практическое значение в случае использования средств регуляции численности вредных насекомых (20-ГЭ и его синтетические аналоги могут быть потенциально отнесены к ним). В этом случае, сроки применения, виды и дозы препаратов необходимо корректировать в соответствии со стадиями онтогенеза и погодными условиями.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 15-04-04801-а.

Литература

1. Селье Г. Стресс без дистресса. М.: Прогресс, 1979.— 123 с.
2. Беньковская Г. В. Возможности и ограничения изменений продолжительности жизни в лабораторном эксперименте // Успехи геронтол. 2010. Т. 23. № 3. С. 442–446.
3. Никонов Ю.М., Беньковская Г.В. Механизмы поддержания полиморфизма по продолжительности жизни в лабораторных линиях комнатной мухи. // Успехи геронтол. 2013. Т. 26. № 4. С. 594–600.
4. Беньковская Г.В., Соколянская М.П. Адаптивная значимость формирующейся устойчивости к стрессорам разного типа в лабораторных популяциях комнатной мухи. // Экология. 2010. № 3. С. 227-231.

5. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method // *Methods*. 2001. Vol. 25. P. 402–408.
6. Kozlova T., Thummel C.S. Spatial patterns of ecdysteroid receptor activation during the onset of *Drosophila metamorphosis* // *Development*. 2002. V.129. P.1739-1750
7. Грунтенко Н.Е. Стресс и размножение насекомых: гормональный контроль // *Евразийский энтомологический журнал*. 2008. Т.7. Приложение 1. С.3-46.
8. Rees H.H. Ecdysteroid biosynthesis and activation in relation to function // *Eur.J. Entomol.* 1995. V.92. P. 9-39.
9. Báthori M, Tóth N, Hunyadi A, Márki A, Zádor E. Phytoecdysteroids and anabolic-androgenic steroids--structure and effects on humans // *Curr. Med. Chem.* 2008. V.15. No.10. P.75-91.
10. Хлебодарова Т.М. Как клетки защищаются от стресса? // *Генетика*. 2002. Т. 38. №4. С. 437-452.
11. Parcell D., Lindquist S. The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins // *Annu. Rev. Genet.* 1993. V. 27. P. 437-496.
12. Hartl F.U. Molecular chaperones in cellular protein folding // *Nature*. 1996. V. 381. P. 571-579.
13. Ratner V.A., Zabanov S.A., Kolesnikova O.V., Vasilyeva L.A. Induction of mobile genetic element Dm412 transpositions in *Drosophila* genome by heat-shock treatment // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992. V.89. P. 5650-5654.
14. Васильева Л.Л., Выхристюк О.В., Антоненко О.В., Захаров И.К. Индукция транспозиций мобильных генетических элементов в геноме *Drosophila melanogaster* различными стрессовыми факторами // *Вестник ВОГиС*. 2007. Т.11. №3/4. С. 662-671.
15. Gong, Y., Thompson, J. N. Jr, and Woodruff, R. C. Effect of deleterious mutations on life span in *Drosophila melanogaster*. // *J Gerontol A Biol. Sci. Med. Sci.* 2006. V.61. N12. P. 1246-1252.
16. Murray, V. Are transposones a cause of ageing? // *Mutat. Res.* 1990. V.237. N2. P. 59-63.
17. Atkinson PW, Warren WD, O'Brochta DA. The *hobo* transposable element of *Drosophila* can be cross-mobilized in houseflies and excises like the *Ac* element of maize // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1993. V.83. P. 9693–9697.
18. Warren, W.D., Atkinson, P.W., and O'Brochta, D.A. The *Hermes* transposable element from the house fly, *Musca domestica*, is a short inverted repeat-type element of the *Hobo*, *Ac*, and *Tam 3 (hAT)* element family // *Genet. Res.* 1994. V.64. P. 82-92.
19. Беньковская Г.В., Салтыкова Е.С., Сухорукова О.С., Николенко А.Г. Метаболическая регуляция двух типов фенолоксидазной активности в онтогенезе комнатной мухи // *Онтогенез*. 2006. Т. 37. №2. С. 1-7.
20. Hamann S., Strätling W.H. Specific binding of *Drosophila* nuclear protein PEP (protein on ecdysone puffs) to hsp70 DNA and RNA. // *Nucleic Acids Res.* 1998. V.26 N.18. P. 4108-4115.
21. Евгенийев М.Б., Зацепина О.Г., Какпаков В.Т., Власова И.Е. Комбинированное действие теплового шока и экдизона на транскрипцию политеменных хромосом *Drosophila melanogaster* // *Мол. биол.* 1985. Т.19. С.483-488.
22. Беньковская Г.В., Мустафина Р.Ш. Влияние светового режима на биохимические показатели развития стресс-реакции в линиях *Musca domestica* L. с различной продолжительностью жизни // *Журн. эвол. биох. и физиол.* 2012. Т. 48. № 5. С. 433-438.
23. Ponton F, Chapuis MP, Pernice M, Sword GA and Simpson SJ. Evaluation of potential reference genes for reverse transcription-qPCR studies of physiological responses in *Drosophila melanogaster* // *J. Insect. Physiol.* 2011. V. 57. P. 840–850.
24. Ming Zhong, XiangWang, JifangWen, Jifeng Cai, Chang Wu, and Sanaa Mohamed Aly Selection of reference genes for RT-qPCR in the house fly // *Acta Biochim Biophys Sin.* 2013. V.45. P.1069–1073.
25. Dellavalle R.P., Petersen R., Lindquist S. Preferential deadenylation of Hsp70 mRNA plays a key role in regulating Hsp70 expression in *Drosophila melanogaster* // *Mol. Cell. Biol.* 1994. V.14. P.3646-3659.
26. Berger S.L., Meselson M. Production and cleavage of *Drosophila* Hsp70 transcripts extending beyond the polyadenylation site // *Nucl. Acids. Res.* 1994. V.22. P. 3218-3235.
27. Musser F.R., Shelton A.M. The influence of post-exposure temperature on the toxicity of insecticides to *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) // *Pesticide science*. 2005. V.61. N5. P. 508-510.

28. Rinkevich F.D., Zhang L., Hamm R.L., Brady S.G., Lazzaro B.P., Scott J.G. Frequencies of the pyrethroid resistance alleles of *Vssc1* and *CYP6D1* in house flies from the eastern United States // *Insect Molecular Biology*. 2006. V.15. N2. P. 157–167.

CHANGE OF TRANSCRIPTOME COMPOSITION IN *MUSCA DOMESTICA* LARVAE UNDER THE 20-HYDROXYECDYSONE AND HEAT STRESS INFLUENCE

Yu.M. Nikonorov, T.T. Akhmetkireeva, G.V. Benkovskaya

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Russia, Ufa

Summary

Analysis of some genes transcriptional activities in cover and muscle tissues of house fly III instar larvae under heat stress and after the treatment by low concentration of ecdysone revealed the features in mechanisms of stress impacts response in individuals from inbred strains differ by reproductive dynamics and life span. According to the organism's ability to restore the original parameters, including the content of specific genes mRNA from certain gene assemblies, it is possible to assess the strength and duration of stress impacts and adequacy of defense reactions. The peculiarities of changes dynamics in response of stressing impacts might prove to be the characteristic features of present population. Investigations funded by RFBR 15-04-04801-a.

Keywords: stress, transcriptome, life span, domestic fly, 20-hydroxyecdysone