

Оценка мутагенности химических соединений, физических факторов и неидентифицированных компонентов загрязнения окружающей среды методом соматических мозаиков на клетках крыла *Drosophila melanogaster*

А.П. Захаренко^{1,2}, И.К. Захаров^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

В статье описан соматический мутационный и рекомбинационный тест (Somatic Mutation and Recombination Test, SMART) на клетках крыла *Drosophila melanogaster*, который может быть использован для оценки влияния на геном различных факторов: физических (температура, разные типы радиоактивного излучения, электромагнитные поля), биогенных (генетические, физиологические, инфекционные) и широкого спектра химических соединений. Метод SMART используется как вариант метода *in vivo* при оценке мутагенных и промутагенных свойств пищевых добавок и продуктов, при скрининге потенциальных лекарственных и косметических препаратов, поллютантов окружающей среды. В основе метода лежит действие изучаемого агента на геном активно делящихся клеток крылового имагинального диска личинки, гетерозиготной по рецессивным мутациям, маркирующим клетку крыла. Мутации локализованы на левом плече хромосомы 3 – *multi wing hairs* (*mwh*; 3 – 0,3) и *fla e* (*fl* ; 3 – 38,8), что позволяет выявлять у гетерозигот по этим локусам как мутационные, так и рекомбинационные события. Крыло *Drosophila melanogaster* содержит 24 400 клеток, расположенных в два слоя, и в норме каждая клетка крыла имеет одну ворсинку. Рекомбинационное или мутационное событие в клетке приводит к образованию мутантных пятен / клонов, видимых при микроскопическом анализе поверхности крыловой пластинки. Наряду с тем, что в основе системы детоксикации дрозофилы и млекопитающих лежит действие цитохрома P450, к достоинствам метода SMART относится существование модификаций теста с повышенным уровнем экспрессии цитохрома P450, позволяющих более надежно экстраполировать результаты тестирования на млекопитающих. Подробные рекомендации по использованию метода SMART на клетках крыла *Drosophila melanogaster*, представленные в работе, могут применяться как методическое пособие в практике и учебных целях.

Ключевые слова: SMART; *mwh*; *fl* ; соматический мутагенез; *Drosophila melanogaster*.

Determination of mutagenicity of chemical compounds, physical factors and environmental pollutants by the *Drosophila melanogaster* wing somatic mutation and recombination test

L.P. Zakharenko^{1,2}, I.K. Zakharov^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

A somatic mutation and recombination test (SMART) on the wing cells of *Drosophila melanogaster* is described in this article in detail. SMART can be used to evaluate the effect of various factors on the genome: physical (temperature, various types of radiation, electromagnetic fields), biogenic (genetic, physiological, infectious factors) and a wide range of chemical compounds. SMART is used as an *in vivo* version of the method for evaluating promutagenic and mutagenic properties of food, food supplements, potential drugs and cosmetics, and environmental pollutants. The method is based on the influence of the agents under study on the dividing cells of the wing imaginal discs of larvae heterozygous for recessive mutations, marking the wing cells. The mutations, *multi wing hairs* (*mwh*; 3 – 0.3) and *fla e* (*fl* ; 3 – 38.8), are located on the left arm of chromosome 3. The *Drosophila melanogaster* wing contains 24,400 cells arranged in two layers. Each normal cell has only one wing fiber. Recombination or mutational events in the cell leads to the formation of mutant spots/clones visible by microscopic analysis of the wing surface. The *Drosophila* and mammalian detoxication system is arranged on similar principles, which are based on the action of cytochrome P450. There are modifications to SMART, based on elevated cytochrome P450 expression, allowing more reliable extrapolation of the test results to mammals. Detailed

recommendations for the use of the SMART method on the wing cells of *Drosophila melanogaster* presented in the paper can be used as a textbook in practice and for training purposes.

Key words: SMART; *mwh*; *fl*; somatic mutagenesis; *Drosophila melanogaster*.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Захаренко Л.П., Захаров И.К. Оценка мутагенности химических соединений, физических факторов и неидентифицированных компонентов загрязнения окружающей среды методом соматических мозаиков на клетках крыла *Drosophila melanogaster*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(1):72-77. DOI 10.18699/VJ16.113

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Zakharenko L.P., Zakharov I.K. Determination of mutagenicity of chemical compounds, physical factors and environmental pollutants by the *Drosophila melanogaster* wing somatic mutation and recombination test. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(1):72-77. DOI 10.18699/VJ16.113

D*rosophila melanogaster* на протяжении более века является излюбленным генетическим объектом исследований, одним из основных модельных объектов в экспериментальной биологии на всех уровнях организации живого – от молекулярного и клеточного до организменного и популяционного (Медведев, 1966; *Drosophila* ..., 1986; Ashburner, 1989; Rubin, Lewis, 2000; Wolf, Heberlein, 2003; Юрченко и др., 2005; Arias, 2008; Greenspan, 2008; Bellen et al., 2010).

Дрозофила эффективно используется для оценки токсических, мутагенных, канцерогенных и протекторных свойств широкого спектра химических соединений и физических факторов, при скрининге лекарственных средств и установлении молекулярных механизмов их действия (*Drosophila* ..., 1986; Zijlstra et al., 1987; Vidal, Cagan, 2006; Pandey, Nichols, 2011). Моделирование заболеваний человека на *D. melanogaster* связано с высокой степенью сходства консервативных генов, физиологических процессов и общности путей реализаций развития признаков, а также с досконально изученной генетикой самого объекта. Немаловажно, что для дрозофилы свойственны быстрая смена поколений, большое количество потомков, получаемых от пары родителей, а также сравнительная дешевизна экспериментальной работы по сравнению с моделями *in vivo* на млекопитающих.

В силу неизбежной видовой специфичности систем детоксикации и метаболизма химических соединений не существует идеальных тест-систем, однозначно оценивающих токсичность, мутагенность, канцерогенность и другие свойства химических соединений и физических факторов.

Из мирового опыта следует, что набор из трех различных генетических тест-систем достаточен, для того чтобы сделать достоверное заключение о мутагенности тестируемого химического соединения. В обычно используемый набор генетических методов входят: микробиологический тест; тест с использованием культуры клеток млекопитающих *in vitro*; и, по крайней мере, один тест предполагает использование системы *in vivo*, когда генетический эксперимент проводится на организменном уровне, поскольку нельзя исключить, что тестируемое химическое соединение промутаген в процессе метаболизма не приобретет мутагенные свойства. Для оценки промутагенных свойств обычно используют лабораторных животных – грызунов или дрозофилу. Заключение о мутагенности будет более достоверным, по нашему мнению, если в системе *in vivo*

будет использоваться дрозофила. Это связано, с одной стороны, с тем, что ситуация *in vivo* на млекопитающих моделируется в современных вариантах микробиологических тестов, поскольку существуют модификации этих тестов с метаболической активацией химических соединений микросомальной фракцией печени крыс и мышей. С другой стороны, показано, что система детоксикации химических соединений у насекомых, в частности у дрозофилы, устроена по тому же принципу, что и у человека, и у других млекопитающих, и в ее основе лежит активность системы цитохрома P-450 (Wilkinson, Brattsten, 1972). Система цитохрома P-450 у дрозофилы индуцибельна и содержит несколько изоферментных форм (Zijlstra et al., 1987). Благодаря этому организм дрозофилы способен активировать широкий спектр промутагенов (Frölich, Würgler, 1989; Graf et al., 1984, 1989; Graf, Singer, 1992).

Классическим методом для количественной оценки мутагенности химических соединений на дрозофиле является тест сцепленных с полом рецессивных мутаций, принципиальная схема которого была предложена еще Г. Меллером более полувека назад и до сих пор не претерпела изменений. С 1974 г. стали использовать для оценки мутагенности соматические клетки дрозофилы, а именно глазные имагинальные диски (Mollet, Würgler, 1974). К несомненным преимуществам тест-систем *in vivo* на соматических клетках дрозофилы следует отнести наряду с быстрой сменой поколений возможность работы с большими выборками (надежность статистических заключений), что значимо в генетических экспериментах.

Позднее в связи с тем, что была обнаружена корреляция между мутагенными и канцерогенными свойствами химических соединений (Vogel et al., 1980) и канцерогенез оказался связанным не только с мутагенной, но и с рекомбиногенной активностью химических соединений (Kinsella, Radman, 1978; Radman, Kinsella, 1980), был разработан метод соматических мозаиков – Somatic Mutation and Recombination Test (SMART) (Lawrence et al., 1986), и интерес к соматическим мутациям возрос. На клетках крыла *D. melanogaster* SMART оказался наиболее удобным для практического применения и продолжает широко использоваться (Graf et al., 1989; Krogulski, 1994; Lombardot et al., 2015).

Мы увеличили чувствительность метода SMART на клетках крыла *D. melanogaster*, что важно из-за низкой частоты генетических событий, введя в анализ класс оди-

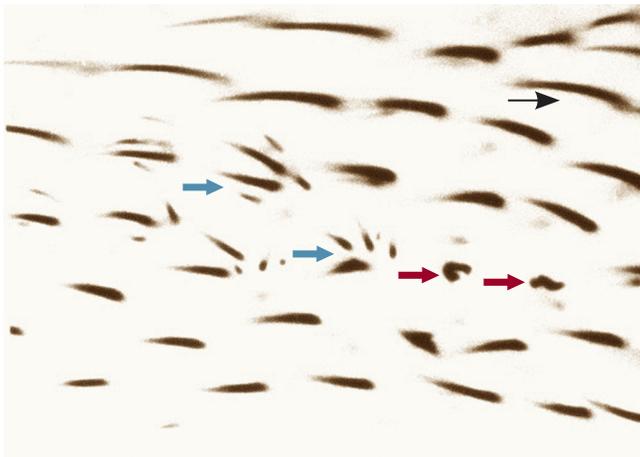


Fig. 1. The twin mutant spot as a result of a recombination event. →, the normal cell; →, the "multi wing hairs" (*mwh*) mutation; →, the "fla e" (*fl*) mutation.

ночных мутаций, имеющих морфологическое проявление (Захаренко, Захаров, 1996; Захаренко и др., 1997), которое авторы, разработавшие метод, относят к модификациям. В данной работе приведено детальное описание, «шаг за шагом», метода соматических мозаиков на клетках крыла *D. melanogaster*.

Линии *Drosophila melanogaster*, используемые в тест-системе SMART на клетках крыла

В тесте используются линии *D. melanogaster*, несущие рецессивные мутации, локализованные на левом плече хромосомы 3 – *multi wing hairs* (*mwh*; 3–0,3) и *flare* (*flr*; 3–38,8) (Lindsley, Zimm, 1992). Мутация *flr*³ в гомозиготном состоянии летальна, поэтому хромосому с данной мутацией поддерживают в гетерозиготном состоянии с балансерной хромосомой TM3 (маркирована мутацией *Ser*). В результате скрещивания самок *mwh* с самцами *flr*³/*Ser* получают потомков двух генотипов: *mwh/flr*³ (нормальная форма крыла) и *mwh/Ser* (крылья с вырезкой). Для микроскопического анализа берут крылья нормальной формы. Когда необходимо оценить долю рекомбинантов среди общего числа мутаций, анализируют крылья с вырезкой, так как у таких особей соматическая рекомбинация в хромосоме 3 супрессирована за счет балансерной хромосомы TM3.

В 1982 г. А. Frölich и F. Würgler предложили использовать в тест-системе на клетках крыла дрозофилы улучшенную линию *ORR flr*³, которая отличается от исходной тем, что хромосомы 1 и 2 линии *flr*³ были замещены на хромосомы 1 и 2 линии Oregon-R, устойчивой к инсектициду ДДТ (трихлорметилди(*n*-хлорфенил)метан). Ген *R1*, локализованный на второй хромосоме, обеспечивает устойчивость к ДДТ и ответственный за высокий уровень экспрессии цитохрома P-450 (Frölich, Würgler, 1989). Благодаря этому чувствительность метода повышается в 2,5 раза для некоторых химических соединений и метод позволяет выявлять мутагены и промутагены с большей

эффективностью. В 1992 г. U. Graf и N. Shaik показали, что если скрещивать самок линии *ORR flr*³ с самцами линии *mwh* (*ORR* в гетерозиготном состоянии), то эффективность метода так же высока, как и в случае скрещивания самок *ORR flr*³ с самцами *ORR mwh* (*ORR* – в гомозиготном состоянии), но в первом случае вероятность ошибок при анализе мутаций меньше, чем во втором. Ошибки возможны, когда *ORR*-хромосома 2 находится в гомозиготном состоянии, при этом проявляется рецессивная мутация, вызывающая деформацию формы ворсинок и сцепленная с геном *R1* (Graf, van Schaik, 1992).

Морфологическое проявление мутаций *mwh* и *flr*

Каждое крыло дрозофилы содержит около 24 400 клеток, расположенных в два слоя. Каждая клетка содержит морфологический маркер – ворсинку. У мутантной мухи, гомозиготной по гену *mwh*, клетка содержит вместо одной несколько ворсинок разной длины. Мутация *flr* проявляется как деформированная ворсинка, имеющая форму языка пламени (рис. 1).

Схема эксперимента

Биологические объекты – системы многофакторные, поэтому в контроле любые количественные показатели могут меняться от эксперимента к эксперименту в силу влияния случайных причин или неконтролируемых факторов. В некоторых случаях такая причина известна. Так, например, повышение температуры содержания личинок с 25 до 29 °С заметно увеличивает частоту соматических мутаций (Graf, 1986; Katz, Foley, 1993), поэтому необходимо максимально стандартизировать условия проведения эксперимента.

Чтобы получить достоверный результат, для каждого типа воздействия (концентрация, температура, стадия и время воздействия) необходимо взять несколько пробирок с кормом, в каждую из которых на сутки помещают равное количество виргинных самок линии *ORR flr*³ и самцов линии *mwh*. Время, в течение которого личинки контактируют с исследуемым веществом, можно варьировать, перенося личинок, находящихся на определенной стадии развития, на корм, содержащий тестируемое вещество. Орган-мишень – имагинальный крыловой диск – имеет следующие размеры: через одни сутки личиночного развития – 30 клеток, на стадии предкуколки – 24 400 клеток (Roberts, 1986). Орган перестает быть чувствительным к воздействию, когда деление клеток в крыловом имагинальном диске прекращается. Чем больше размер ткани-мишени в момент воздействия, тем выше частота мутирования. Чем раньше произойдет мутационное событие (чем меньше количество клеток в имагинальном диске в момент воздействия), тем больше будет размер мутантного пятна (Ashburner, 1989; Graf, 1995). Личинок в опыте можно выращивать на корме с добавлением тестируемого вещества весь период личиночного развития – от яйца до имаго, если мутагенный эффект слабый и нет задачи исследовать силу мутационного воздействия в зависимости от стадии развития и длительности воздействия.

Доза тестируемого на мутагенность химического вещества зависит от его токсичности и не должна превышать

The compositions of the "poor" and "rich" food

Ingredient	"poor" food	"rich" food
Agar-agar, g	10	10
Sugar, g	60	60
Yeast, g	7	40
Semolina, g	–	60
Starch, g	20	–
Water, l.	≤ 1	≤ 1

LD₅₀, вызывающую гибель 50 % личинок. Обычно берут 1/2–1/4 от LD₅₀. Если тестируется нетоксичный или малотоксичный лекарственный препарат, то его концентрация должна превышать терапевтическую дозу на два порядка величин. Рекомендуется брать две–три разные концентрации, так как наличие дозовой зависимости при слабом мутагенном эффекте застрахует результат от возможных случайных ошибок (Оценка мутагенности ..., 1991).

Оценка мутагенности химических веществ

1. Корм, содержащий нужную концентрацию тестируемого на мутагенность вещества, разливают в шесть пробирок по 5–10 мл в каждую и накрывают их марлей, сложенной в два–три слоя. Состав корма указан в таблице. Для поддержания линий *D. melanogaster* используют «бедный» корм, на котором при комнатной температуре развитие идет медленнее, чем на «богатом» корме, поэтому мух можно перебрасывать в свежие пробирки не чаще одного раза в месяц. В эксперименте используют «богатый» дрожжевой корм. Особенности работы с дрозофилой подробно описаны в специальных практических руководствах (Медведев, 1966; Roberts, 1986; Ashburner, 1989; Graf et al., 1992).

2. После того как корм остынет и со стенок пробирок испарится лишняя влага, в пробирки на сутки помещают 15 виргинных самок *ORR flr³* и 10 самцов линии *mwh*. Возраст самок должен быть не менее двух суток, так как более молодые особи не способны эффективно спариваться и откладывать достаточное количество яиц. Максимальной фертильности самки дрозофилы достигают на пятый день после вылупления, мухи старше 10-дневного возраста не используются. Контрольные и опытные эксперименты проводятся одновременно при одинаковых условиях.

3. Имаго, развившихся из подвергнутых воздействию личинок, наркотизируют и разделяют по фенотипу (крылья с вырезкой – *mwh/Ser* и крылья без вырезки – *mwh/flr³*). Для анализа используют крылья мух генотипа *mwh/flr³*, если нет задачи оценить долю рекомбинантов в общем числе мутационных событий. Мух можно хранить несколько месяцев в растворе 70 %-го этанола.

Приготовление препаратов из крыльев мух для микроскопирования

На предметное стекло в каплю дистиллированной воды помещают несколько фиксированных 70 %-м этанолом

мух. Пинцетом с острыми браншами отрывают крыло у самого основания, придерживая муху препаровальной иглой. Отделенное крыло переносят в каплю раствора Фора на другое предметное стекло. В состав раствора Фора входит 6 г гуммиарабика, 4 мл глицерина, 10 г хлоралгидрата и 10 мл воды (Wieshaus, Nusslein-Volhard, 1986). Раствор не должен быть слишком жидким или вязким, а капля – очень большой, чтобы покровное стекло не «плавало» по капле. Раствор не должен выступать из-под покровного стекла, которым накрывают каплю после того, как в нее будет перенесено 10–15 крыльев. Тяжести покровного стекла достаточно, чтобы крыло хорошо расправилось. Придавливать покровное стекло не рекомендуется, так как нарушается естественный рисунок расположения ворсинок на крыле и на жилках. На одном предметном стекле можно, таким образом, разместить до 40–60 крыльев в 4 каплях раствора Фора. Чтобы избежать образования пузырей воздуха на препаратах, процедуру накопления крыльев в капле нужно проводить как можно быстрее, не допуская «подсыхания» капли раствора Фора.

Подсохнувшие препараты можно микроскопировать. Если мутагенный эффект отсутствует, анализировать нужно не менее 100 крыльев. Чтобы исключить непропорциональное влияние случайных факторов, рекомендуется использовать равное число крыльев в контроле и опыте (Frei, Würigler, 1995).

Фенотипическое проявление мутации *mwh*

Мутация *mwh* имеет несколько вариантов морфологического проявления. В литературе существуют разные точки зрения, считать ли клетки с двумя ворсинками морфозами или истинными мутациями. Мы считаем, что клетки с двумя ворсинками являются истинными мутациями, поскольку такие клетки есть у гомозигот *mwh/mwh*, они встречаются в составе больших пятен и индуцируются гамма-радиацией в той же степени, что и мутация типа *mwh* (Захаренко, Захаров, 1996).

Микроскопический анализ крыльев

Анализ препаратов проводят на световом микроскопе при увеличении × 400. Микроскопирование начинают всегда с одного и того же участка крыла и сканируют крыло в одном направлении, при этом необходимо работать микровинтом, поскольку крыло состоит из двух параллельных слоев клеток, расположенных в разных

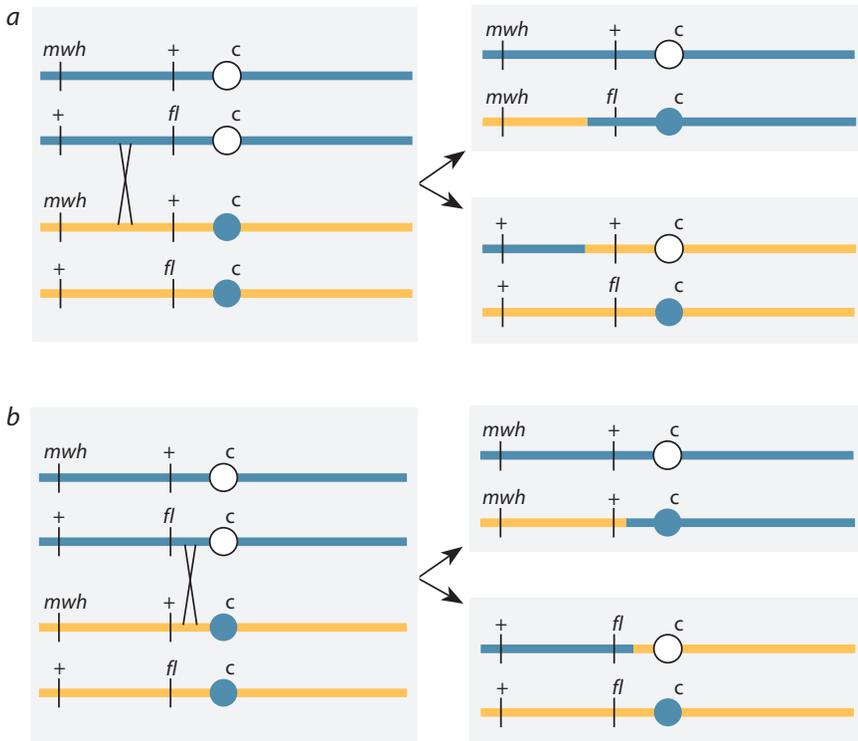


Fig. 2. Schematic representation of recombination events in wing cells of heterozygotes (*mwh/fl*) bringing about (a) single and (b) twin mutant spots.

(a) Recombination between *mwh* and *fl*. (b) Recombination between the chromocenter and *fl*. c, chromocenter, «+», normal gene. The recombination region is indicated with crossed lines.

плоскостях. Мутации подразделяют на классы по морфологии и по размеру клеточных клонов:

1. Одиночные пятна – это результат одного мутационного события. Малое пятно состоит из 1–2 клеток. Большое пятно – клон, включающий более двух мутантных клеток, появляющийся на ранних стадиях развития. Малое пятно индуцируется на поздних стадиях личиночного развития, когда крыловой имагинальный диск почти сформирован. Малое пятно может также являться результатом мутационного события, не позволяющего мутантной клетке делиться. Обычно одиночные клетки имеют фенотип *mwh*. Одиночные пятна типа *flr* при спонтанном мутировании практически не встречаются, поэтому в анализ не берутся.

2. Двойные пятна – два контактирующих пятна разных типов. Одно пятно имеет фенотип ворсинок – *mwh*, другое – *flr*. Это событие – результат рекомбинации гомологичных хромосом, прошедшей между локусом *flr* и центромерным районом (рис. 1, 2).

Соматическая рекомбинация может произойти в любом месте хромосомы 3, и тогда одиночное пятно *mwh*, как и двойное пятно, может быть результатом рекомбинационного события. Вычислить долю рекомбинационных событий из общего числа мутаций можно, если «запереть» кроссинговер с помощью балансерной хромосомы с инверсией. Тогда число одиночных пятен заметно уменьшается, особенно сильно уменьшается число больших пятен. Малые пятна могут быть результатом анеуплоидии, возникшей в результате делеции или транслокации нормального гена, позволяющей клетке жить, но препятствующей ее размножению. Не исключается возможность повреждения нормального аллеля гена *mwh*.

Статистический метод для принятия решения о результатах теста на мутагенность, определяющий положительный, отрицательный или неопределенный результат воздействия, подробно описан в работе Н. Frei и F. Würgler (1988).

Acknowledgments

The study was supported by Budgeted Project 0324-2015-0004.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Arias A.M. *Drosophila melanogaster* and the development of biology in the 20th century. *Methods Mol. Biol.* 2008;420:1-25.
- Ashburner M. *Drosophila: A Laboratory Handbook*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- Bellen H.J., Tong C., Tsuda H. 100 years of *Drosophila* research and its impact on vertebrate neuroscience: a history lesson for the future. *Nat. Rev. Neurosci.* 2010;11: 514-522.
- Drosophila: A practical approach*. Ed. D.B. Roberts. Oxford, Washington DC: IRL Press, 1986.
- Frei H., Würgler F.E. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result. *Mutat. Res.* 1988;203(4): 297-308.
- Frei H., Würgler F.E. Optimal experimental design and sample size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination tests (SMART) *Drosophila*. *Mutat. Res.* 1995;334:247-258.
- Frölich A., Würgler F.E. New tester strains with improved bioactivation capacity for the *Drosophila* wing-spot test. *Mutat. Res.* 1989;216:179-187.
- Graf U. Temperature effect on *mwh* expression in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Drosophila Inform. Serv.* 1986; 63:65.
- Graf U. Analysis of the relationship between age of larvae at mutagen treatment and frequency and size of spots in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Experientia.* 1995;51: 168-173.
- Graf U., Frei H., Kagi A., Katz A.J., Würgler F.E. Thirty compounds tested in the *Drosophila* wing spot test. *Mutat. Res.* 1989;222: 359-373.
- Graf U., Singer D. Genotoxicity testing of promutagens in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 1992;8(1):15-27.
- Graf U., van Schaik N. Improved high bioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 1992;271:59-67.
- Graf U., van Schaik N., Würgler F.E. *Drosophila Genetics: A Practical Course*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1992.
- Graf U., Würgler F.E., Katz A.J., Frei H., Juon H., Hall C.B., Kale P.G. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila me-*

- lanogaster*. Environ. Mutagen. 1984;6:153-188.
- Greenspan R.J. The origins of behavioral genetics. Curr. Biol. 2008;18: R192-R198.
- Katz A.J., Foley T.A. Effect of temperature on frequencies of spots in *Drosophila* wing-spot assay. Environ. Mol. Mutagen. 1993;22(1): 54-58.
- Kinsella A.R., Radman M. Tumor promoter induces sister chromatid exchanges: relevance to mechanisms of carcinogenesis. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1978;75(12):6149-6153.
- Krogulski A. Usefulness of the fruit fly for assessment of mutagenicity of benzene, acetaldehyde and formaldehyde. Roczn. Panstw. Zakl. Hig. 1994;45:151-155.
- Lawrence P.A., Johnston P., Morata G. Methods of marking cells. *Drosophila*: A Practical Approach. Ed. D.B. Roberts. Oxford, Washington DC: IRL Press, 1986.
- Lindsley D.L., Zimm G.G. The Genome of *Drosophila melanogaster*. Acad. Press, Inc. 1992.
- Lombardot B., Oh C.T., Kwak J., Genovesio A., Kang M., Hansen M.A., Han S.J. High-throughput *in vivo* genotoxicity testing: an automated readout system for the somatic mutation and recombination test (SMART). PLoS One. 2015;10(4):e0121287. DOI 10.1371/journal.pone.0121287.eCollection 2015
- Medvedev N.N. Prakticheskaya genetika [Practical Genetics]. Moscow, Nauka, 1966.
- Mollet P., Würgler F.E. Detection of somatic recombination and mutation in *Drosophila*: A method for testing genetic activity of chemical compounds. Mutat. Res. 1974;25:421-424.
- Otsenka mutagennosti novykh lekarstvennykh sredstv. Metodicheskie rekomendatsii [Estimation of Mutagenicity of New Drugs. Guidelines]. Moscow, 1991.
- Pandey U.B., Nichols C.D. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. Pharmacological Rev. 2011;63(2):411-436.
- Radman M., Kinsella A.R. Chromosomal events in carcinogenic initiation and promotion: implications for carcinogenicity testing and cancer prevention strategies. IARC Sci. Publ. 1980;(27):75-90.
- Roberts D.B. Basic *Drosophila* care and techniques. *Drosophila*: A Practical Approach. Ed. D.B. Roberts. Oxford, Washington DC: IRL Press, 1986.
- Rubin G.M., Lewis E.B. A brief history of *Drosophila*'s contribution to genome research. Science. 2000;287:2216-2218.
- Vidal M., Cagan R.L. *Drosophila* models for cancer research. Curr. Opin. Genet. Dev. 2006;16:10-16.
- Vogel E., Blijleven W.G.H., Klapwijk P.M., Zijlstra J.A. Some current perspectives at the application of *Drosophila* in the evaluation of carcinogens. The Predictive Value of Short-Term Screening Tests in Carcinogenicity. Eds G.M. Williams, R. Kroes, H.W. Waaijers, K.W. Van de Poll. Amsterdam: Elsevier, 1980.
- Wilkinson C.F., Brattsten L.B. Microsomal drug metabolizing enzymes in Insects. Drug Metab. Rev. 1972;1:153.
- Wieshaus E., Nusslein-Volhard Ch. Looking at Embryos. *Drosophila*: A Practical Approach. Ed. D.B. Roberts. Oxford, Washington DC: IRL Press, 1986.
- Wolf F.W., Heberlein U. Invertebrate models of drug abuse. J. Neurobiol. 2003;54:161-178.
- Yurchenko N.N., Ivannikov A.V., Zakharov I.K. The history of *Drosophila* studies: steps in the development of genetics. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(1):39-49.
- Zijlstra J.A., Vogel E.W., Breimer D.D. Pharmacological and toxicological aspects of mutagenicity research in *Drosophila melanogaster*. Reviews in Biochemical Toxicology. V. 8. Eds E. Hodgston, J.R. Bend, R.M. Philpot. Amsterdam: Elsevier, 1987.
- Zakharenko L.P., Zakharov I.K. The problem of true and false mutant spots of the *mwh* type in method of somatic mosaics of *Drosophila melanogaster* wing cells. Genetika = Genetics (Moscow). 1996; 32(6):755-758.
- Zakharenko L.P., Zakharov I.K., Borodin P.M., Vasyunina E.A., Dubatolova T.D., Karamysheva T.V. Geneticheskie test-sistemy otsenki mutagennosti (genotoksichnosti) i radioprotektoynykh svoystv. Nauchno-prikladnye razrabotki [Genetic Test-System for Estimation of Mutagenicity (Genotoxicity) and Radioprotective Properties. Research and Application Development]. Novosibirsk, ICG SO RAN, 1997.