

СПОНТАННИЙ МУТАГЕНЕЗ ГІПЕРВАРІАБЕЛЬНИХ ДІЛЯНОК ГЕНОМУ МИШЕЙ ЛІНІЇ CC57W/Mv.

М.В.Дибков*, Г.Д.Телегєєв, С.С.Малюта.

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України
252143 Київ вул. Академіка Заболотного, 150.

Методом геномної дактилоскопії з зондом на основі фага M13 проведено аналіз спонтанного мутаційного процесу лінії мишей CC57W/Mv. Частота мутацій за гіперваріабельними ділянками генома складає 0,0033 на фракцію ДНК.

Вступ. На сьогодні проблема аналізу впливу різних факторів навколишнього середовища, що дестабілюють геном є чи не найважливішою. Одним із таких факторів є малі дози іонізуючого випромінення, актуальність дослідження яких постала перед дослідниками внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС.

Застосований в даній роботі метод геномної дактилоскопії є таким, що дозволяє за певних умов виявляти подібні геномні порушення з використанням відносно невеликих вибірок [1]. Останнє можливо завдяки тому, що гіперваріабельні ділянки геному (ГДГ), або мінісателіти, що виявляються при геномній дактилоскопії, характеризуються аутосомною локалізацією, кодомінантним характером успадкування, селективною нейтральністю, високою чутливістю до дестабілізуючих факторів, відносно високою частотою спонтанних мутацій, які є наслідком рекомбінаційних процесів у даних ділянках геному тощо [1,2]. Окрім того, при використанні навіть одного полілокусного зонду можна контролювати 10-15 локусів, а оскільки на сьогодні тільки широкоживаних зондів близько десяти, то зрозуміло, які можливості отримує дослідник.

Основною проблемою при застосуванні методу геномної дактилоскопії для аналізу природних популяцій є питання однозначної ідентифікації конкретних локусів при порівнянні кількох геномних дактиловідбитків. Це пов'язано як з низькою точністю визначення розмірів фрагментів ДНК при фракціонуванні у агарозному гелі, так і з неможливістю індивідуальної ідентифікації комігруючих фракцій, що належать до різних локусів однієї родини мінісателітів. Однак, як відомо, при дослідженні лінійних об'єктів згадані проблеми фактично відпадають, що значно полегшує подальший аналіз.

В даній роботі наведено дані про частоту спонтанного мутагенезу ГДГ, що виявляється зондом на основі фагу M13, для мишей лінії CC57W/Mv.

Вказана лінія є складовою частиною запропонованої нами модельної системи для вивчення малих доз іонізуючого опромінення.

Матеріали та методи. *Об'єкти дослідження.* Об'єктом дослідження була контрольна група мишей лінії CC57W/Mv, яка підтримується шляхом братерсько-сестринських схрещувань у віварії Інституту молекулярної біології та генетики НАНУ більше 20 поколінь.

Виділення ДНК. Для аналізу було взято тканину хвоста миші. Зразки заморожували і зберігали до виділення ДНК. Тканину подрібнювали і ресуспендували у лізуючому буфері (50мМ тріс-НСl рН 8,0; 150мМ NaCl; 10мМ ЕДТА; 1% DS-Na; 50 мкг/мл протеїнази К) та

інкубували при 37°C 18 год. Після цього проводили очистку зразків за фенол-хлороформним методом [3], намотували ДНК на паличку та розчиняли у ТЕ-буфері.

Рестрикція та фракціонування ДНК. По 10 мкг кожного з зразків ДНК обробляли ферментом *BsuRI*. Рестрикти висаджували з ацетатом амонію і перерозчиняли у дистильованій воді. Фракціонування фрагментів ДНК проводили у 0,95% агарозному гелі 36 год при 1,5 В/см. Після цього ДНК електрофоретично переносили на капронові мембрани “Хію Калур” (Таллінн) та фіксували прогрівом у вакуумі (2 год при 80°C).

Одержання зонду з високою питомою активністю та гібридизацію проводили, як описано нами [4]. Далі фільтри відмивали та експонували 6-12 діб з плівкою РМ-1 у касетах з підсилюючими екранами.

Результати та обговорення. В даній роботі було проаналізовано зразки ДНК 74 мишей лінії CC57W/Mv. Як відомо [5], у регіоні 10-2 т.п.н. для даної лінії виявляється 12 маркерних смуг. Однак при проведенні досліджень у деяких випадках не аналізували матеріал у межах 3,5-2 т.п.н. внаслідок недостатнього розділення маркерних смуг у даній ділянці геномного дактиловідбитку. З урахуванням даного зауваження було проаналізовано 901 маркерну смугу. При аналізі гібридизаційних картин було виявлено три мутаційні зміни, тобто частота мутаційних змін ГДГ мишей даної лінії складає 0,0033 на маркерну смугу. Даний показник істотно не відрізняється від частот мутаційних процесів ГДГ інших ліній мишей [1] та людини [2].

Отримана частота може бути використана в дослідженнях в рамках запропонованої модельної системи [5] для вивчення впливу малих доз іонізуючого випромінювання.

М. В. Дыбков, Г. Д. Телегеев, С. С. Малюта

Спонтанный мутагенез гипервариабельных участков генома мышей линии CC57W/Mv

Резюме

Методом генаммої дактиямкопи с зондом на основі фага M13 проведено аналіз спонтанною мутаційного процесу лінії мишей CC57W/Mv. Частота мутацій в гипервариабельных участках генома составляет 0,0033 на фракцію ДНК.

M. V. Dybkov, G. D. Telegeev, S. S. Matyuta

Spontaneous mutagenesis in mouse minisatellite for the strain CC57W/Mv

Summary

Spontaneous mutations of the CC57W/Mv inbred mouse were analyzed by method of DMA fingerprints with the phage M13 DNA as a probe. The frequency of mutation in the mouse minisatellite was 0,0033 per fraction DNA.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дуброва Ю.Е., Джеффрейз А.Дж., Малашенко А.М. Мутации в минисателлитной ДНК мышей, индуцированные радиацией. //Генетика .1993.- 29, N 7.- P. 1157-1162.
- Jeffreys A.J., Wilson V., Wong Z., et al. Highly variable minisatellites and DNA fingerprints //Biochem. Soc. Symp.1988.-53.- P. 165-180.
- Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М., “ Мир”, 1984. -480 с., ил.
1. G.D. Telegeev, M.V. Dybkov, K.N. Kiyanita. Optimization of conditions of obtaining the high-label single strain probe based on M13 phage // Биополимеры и клетка.- 1995.- Т.11, N 3-4.С.104-105.
2. Дыбков М.В., Телегеев Г.Д., Столина М.Р., Малюта С.С. Изучение генетической структуры и сравнительный анализ линий мышей CC57W/Mv, C57Bl/6 И BALB/c методом геномной дактилоскопии. //Биополимеры и клетка.- 1995.- 11, N 1.- P.66-69.