

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 здійснено аналіз спонтанного мутаційного процесу лінії мишей CC57W/Mv. Частота мутацій за гіперваріабельними ділянками геному складає 0,0033 на фракцію ДНК.

Вступ. На сьогодні проблема аналізу впливу різних факторів навколишнього середовища, що дестабілізують геном, є чи не найважливішою. Одним із таких факторів є малі дози іонізуючого випромінювання, актуальність вивчення 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, які виявляються при геномній дактилоскопії, характеризуються аутосомною локалізацією, кодомінантним характером успадкування, селективною нейтральністю, високою чутливістю до дестабілізуючих факторів, відносно високою частотою спонтанних мутацій, що є наслідком рекомбінаційних процесів у даних ділянках геному, тощо [1, 2].

Окрім того, при використанні навіть одного полілокусного зонда можна контролювати 10—15 локусів, а оскільки на сьогодні тільки широковживаних зондів відомо 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 в агарозному гелі, так і з неможливістю індивідуальної ідентифікації комігруючих фракцій, які належать до різних локусів однієї родини мінісателітів. Однак, як відомо, при дослідженні лінійних об'єктів згадані проблеми практично відпадають, що значно полегшує подальший аналіз.

В даній роботі наведено дані щодо частоти спонтанного мутагенезу ГДГ, яка виявляється зондом на основі фага M13, для мишей лінії CC57W/Mv.

*Correspondence address.

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 (50 мМ трис-НСІ, рН 8,0, 150 мМ NaCl, 10 мМ ЕДТА, 1 % DS-Na, 50 мкг/мл протеїнази К) та інкубували при температурі 37 °С протягом 18 год. Далі зразки очищували фенол-хлороформним методом [3], намотували ДНК на паличку та розчиняли у ТЕ-буфері.

Рестрикція та фракціонування ДНК. По 10 мкг кожного зразка ДНК обробляли ферментом *BsuRI*. Рестрикти висаджували з ацетатом амонію і перерозчиняли у дистильованій воді. Фрагменти ДНК фракціонували у 0,95 %-му агарозному гелі протягом 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 °С).

Одержання зонда з високою питомою активністю та гібридизацію здійснювали, як описано у роботі [4]. Далі фільтри відмивали та експонували протягом 6—12 діб з плівкою РМ-1 у касетах з підсилюючими екранами.

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

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

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

Спонтанный мутагенез гипервариабельных участков генома мышей линии CC57W/Mv

Резюме

Методом геномной дактилоскопии с зондом на основе фага M13 проведен анализ спонтанного мутационного процесса линии мышей CC57W/Mv. Частота мутаций в гипервариабельных участках генома составляет 0,0033 на фракцию ДНК.

M. V. Dybkov, G. D. Telegееv, S. S. Mal'yuta

Spontaneous mutagenesis in mouse minisatellite for the strain CC57W/Mv

Summary

Spontaneous mutations of the CC57W/Mv inbred mouse were analyzed by method of DNA fingerprints with the phage DNA as a probe. The frequency of mutations 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, № 7.—Р. 1157—1162.
2. Jeffreys A. J., Wilson V., Wong Z. et al. Highly variable minisatellites and DNA fingerprints // Biochem. Soc. Symp.—1988.—53.—Р. 165—180.
3. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование.—М.: Мир, 1984.—480 с.
4. Teleguev G. D., Dybkov M. V., Kiyantsa K. N. Optimization of conditions of obtaining the high-label single strain probe based on M13 phage // Биополимеры и клетка.—1995.—11, № 3—4.—С. 104—105.
5. 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 // Там же.—1995.—11, № 1.—Р. 66—69.

УДК 575.17

Надійшла до редакції 02.11.95