

**RecA-ПОДОБНЫЕ БЕЛКИ В ЯДРАХ КЛЕТОК ВЫСШИХ:  
ВЫЯВЛЕНИЕ КОРОВЫХ СТРУКТУР ПАХИТЕННЫХ ХРОМОСОМ  
В ИЗОЛИРОВАННЫХ НЕФИКСИРОВАННЫХ БЫЧЬИХ  
МЕЙОТИЧЕСКИХ ЯДРАХ С ПОМОЩЬЮ АНТИТЕЛ  
К БЕЛКУ RecA ИЗ ESCHERICHIA COLI**

Поливалентные антитела к белку RecA из *E. coli* (анти-RecA) специфически взаимодействуют с полипептидами с молекулярными массами 40 000 и 90 000 из пахитенных ядер клеток семенников быка. Как показано методом непрямой иммунофлюоресценции, анти-RecA на нефиксированных препаратах этих ядер выявляют равномерно окрашенные коровые структуры мейотических хромосом с ярко окрашенными узлами (иногда теломерной локализации) в окружении ДНК, прокрашенной йодистым пропидием. Эта картина предполагает связывание анти-RecA с компонентами синаптомембранного комплекса, четко выраженное в поздних рекомбинационных узлах в ходе образования хиазм. В соматических клетках анти-RecA окрашивают ядро слабее и диффузно, а в сперматозоидах антиген выявляется, как правило, в спинной и акросомальной части головки. Предварительная обработка препаратов ядер тритоном X-100 и 2 М NaCl несколько снижает интенсивность свечения, но сохраняет коровые структуры, тогда как обработка ДНКазой I с последующей экстракцией 2 М NaCl вызывает заметную диссоциацию антигена.

**Введение.** Изучение гомологической рекомбинации у прокариот шло от гена к ферменту. Сейчас, через 25 лет после открытия гена *recA*, в значительной мере изучен уникальный фермент — гомологическая синаптаза RecA, обладающая рядом активностей для обеспечения процесса обмена питиями между взаимодействующими ДНК [1].

При исследованиях гомологической рекомбинации у высших эукариот, стимулируемых, в частности, и задачами генотерапии, используют другую методологию — от фермента к гену. Достаточно скоро обнаружилось при этом, что существуют как минимум два класса ферментов, которые могут выполнять функции гомологических синапсаз: АТР-зависимые [2—5] и АТР-независимые [6—10].

Такое разнообразие ферментов, очевидно, связано с тем, что у высших определяются по крайней мере три генетически различных иерархических уровня узнавания гомологии [11]: 1) синапс ДНК, подобно тому как это протекает при рекомбинации у прокариот; 2) спаривание хромосом, осуществляемое синаптомембранным комплексом (СК); 3) гомологическое узнавание лишь полностью, а не частично гомологичных хромосом, что необходимо для мейоза эукариот со сложными гибридными полиплоидными геномами.

Оставляя в стороне третий уровень, остановимся на первых двух. Недавнее исследование группы Хотта [10], выполненное на сперматогенетических клетках мышцы, позволяет предположить следующее. В профазе первого мейотического деления, на наиболее драматических с точки зрения рекомбинации стадиях — зиготене и пахитене — на определенное время появляется белок *m-rec* — АТР-зависимая синаптаза, которая может обслуживать первый молекулярный уровень узнавания. Другая АТР-независимая синаптаза — белок *mAi-rec*, возникая в ранней профазе, остается активным на более поздних стадиях и обнаруживается даже в сперматиде и сперматозоиде. Он может обеспечивать второй уровень, являясь компонентом СК.

Недавно в литературе обозначился новый подход к поиску RecA-подобных белков у высших: по реакции с антителами к белку RecA из *E. coli* (анти-RecA). Так был найден белок *KIN* [12], структура которого на протяжении 150 аминокислот на N-конце гомологична на 66 % белку RecA из *Pseudomonas aeruginosa* (R. Devoret, личное сообщение), а также упомянутый белок *mAi-rec* [10].

В настоящей работе мы применили анти-RecA для анализа пахи-

тешных ядер, выделенных из сперматогенетических клеток быка. Наш препарат анти-*RecA* оказался прекрасным интермедиатом для визуализации коровых структур пахитенных хромосом, что позволяет предположить наличие *RecA*-подобных белков в составе СК. Кроме того, мы обнаружили, что два белка с молекулярной массой 40 000 и 90 000 из тех же клеток эффективно реагируют с анти-*RecA*.

**Материалы и методы.** Материалом исследования служили семенные железы быков, свежие или замороженные при  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Ткани гомогенизировали, клеточные ядра выделяли и фракционировали в ступенчатом градиенте плотности сахарозы, как описано ранее [13].

Белок *RecA* получали по методу Кокса и др. [14]. Для иммунизации к 100 мкг белка *RecA* добавляли 3 мкг однонитчатой ДНК из тимуса крупного рогатого скота, смешивали с равным объемом полного адьюванта Фрейнда и вводили кроликам подкожно. Цикл состоял из четырех инъекций с недельными интервалами. После трех недель отдыха его повторяли. Иммуноглобулины выделяли осаждением сульфатом аммония с последующей хроматографией на ДЭАЭ-целлюлозе [15]. Антитела дополнительно очищали, добавляя к ним суммарный препарат клеточных белков *Escherichia coli* Z905 (штамма, дефектного по белку *RecA*) [16], и использовали в дальнейшем во всех экспериментах по иммуноскринингу. В качестве контроля применяли иммуноглобулиновую фракцию, выделенную из крови неиммунизированных кроликов, а также антитела к так называемым интраистернальным вирусным частицам А-типа (анти-IAP) (Энгельгардт, неопубликованные данные).

**Иммуноблоттинг белков.** Белки фракционировали электрофорезом в градиентном (8—16 %) полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии DS-Na [17], после чего их в трис-глициновом буфере Лэммли перенесли на нитроцеллюлозный фильтр BA85 («Schleicher und Schull», ФРГ) в аппарате «Trans-blot cell» («Bio-Rad», США) в течение 2 ч при 0,12 А. Белки на фильтре окрашивали 0,2 %-ным раствором Понсо («BDH Chemicals», Англия) в течение 5 мин, 4 раза споласкивали водой и каждую дорожку разрезали вдоль на три полосы. Полосы выдерживали 1 ч в ТСТ-буфере (50 мМ трис-НСl, рН 7,5, 0,15 М NaCl, 0,05 % твина-20), затем инкубировали 12 ч с анти-*RecA* (разбавление 1/300—600) в ТСТ-буфере. От несвязавшихся антител фильтры отмывали 3—4 раза по 10 мин ТСТ-буфером и инкубировали 1 ч с антителами к иммуноглобулинам кролика, конъюгированными с пероксидазой хрена («ДАКО», Дания), в ТСТ-буфере. Фильтры снова отмывали 3—4 раза по 5—10 мин ТСТ-буфером и окрашивали диаминобензидином («Sigma», США) в соответствии с инструкцией фирмы-изготовителя.

**Иммунофлюоресцентная микроскопия.** Выделенные нефиксированные ядра сорбировали на свежеприготовленные пластинки слюды [18] и обрабатывали по непрямому иммунофлюоресцентному методу. Один из каждой пары препаратов инкубировали 1 ч с анти-*RecA*, другой — с контрольными антителами. После промывки ТСТ-буфером в течение 15—20 мин препараты инкубировали 1 ч с антителами к иммуноглобулинам кролика, мечеными флюоресцеинизотиоцианатом («Sigma», США). Препараты просматривали в микроскопе «Opton» (ФРГ) и фотографировали на пленку «Kodak» (США).

**Результаты и обсуждение.** Специфичность анти-*RecA* проверяли по их реакции с клеточными белками штамма *E. coli* AB1157 (*recA*<sup>+</sup>) и штамма Z905 (*ΔrecA*), содержащего делецию в гене *recA*. Бактериальные клетки лизировали в буфере Лэммли, суммарные клеточные белки фракционировали электрофорезом и после переноса на нитроцеллюлозные фильтры тестировали на связывание с анти-*RecA* (см. «Материалы и методы»).

Как видно из приведенного на рис. 1 иммуноблоттинга, среди белков из штамма AB1157 наш препарат анти-*RecA* выявляет одну основ-

ную зону, совпадающую по электрофоретической подвижности с таковой очищенного белка *RecA* из *E. coli*, и несколько минорных зон с меньшими молекулярными массами (дорожки 1, 2). Последние, по-видимому, являются продуктами деградации белка *RecA* и отмечались ранее в аналогичных экспериментах другими авторами [12]. Действительно, с белками штамма Z905 анти-*RecA* не дают неспецифической реакции (дорожка 3).

На рис. 2 представлены иммуноблоттинг белков пахитенных ядер, выделенных из семенников быка. Видно, что анти-*RecA* специфически реагирует с белками, молекулярные массы которых составляют около

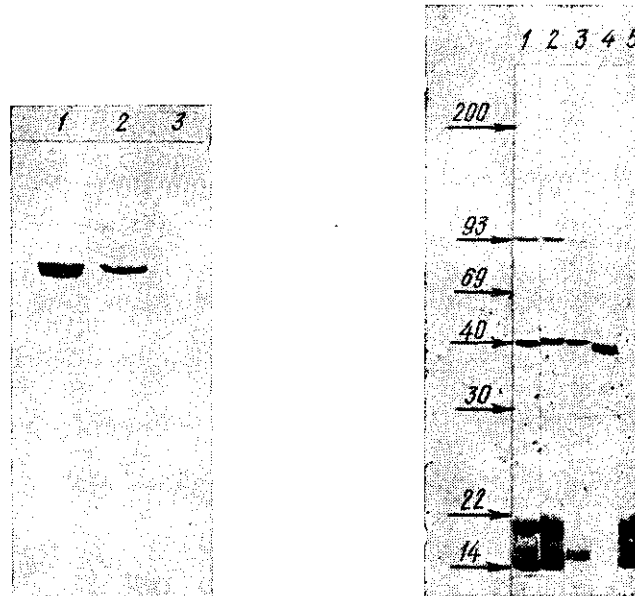


Рис. 1. Иммуноблоттинг суммарных клеточных белков *E. coli*: 1—20 мкг суммарного белка штамма AB1157 (*recA*<sup>+</sup>); 2—5 нг очищенного белка *RecA* из *E. coli*; 3—30 мкг суммарного белка штамма Z905 ( $\Delta recA$ )

Рис. 2. Иммуноблоттинг белков пахитенных ядер, выделенных из семенников быка: 1, 5—исходные выделенные ядра; 2—ядра, обработанные 0,2%-ным тритоном X-100; 3—ядра, обработанные ДНКазой I (500 ед. акт/мл) и 2 М NaCl; 4—5 нг очищенного белка *RecA* из *E. coli*. Фильтры 1—4 инкубировали с анти-*RecA*, фильтр 5—с анти-IAP. Стрелками обозначены положения белков-маркеров; цифрами—их молекулярные массы  $\cdot 10^3$

40 000 и 90 000. Низкомолекулярные белки (13 000—20 000) также окрашиваются анти-*RecA*, но эта реакция—неспецифическая. Такие, вероятно, гистоновые белки реагируют, причем столь же эффективно, и с анти-IAP (дорожка 5). Однако последние не дают реакции с белками размером 40 000 и 90 000.

Следует отметить, что описанные выше белки сохраняются и после обработки пахитенных ядер 0,2%-ным тритоном X-100, а также ДНКазой I (500 ед. акт/мл) с последующей экстракцией 2 М NaCl (см. рис. 2, дорожки 2, 3).

Достаточно очевидно, что обнаруженные нами белки отличаются от белка *KIN* (120 000), выявленного также с помощью поливалентных антител к белку *RecA* из *E. coli* в культурах соматических клеток ряда млекопитающих [12]. Менее очевидно их отличие от рибонуклеотидредуктазы, представленной у млекопитающих двумя мономерами величиной 45 000 и 88 000 [19]. Этот вопрос возникает в связи с тем, что аналог этого фермента из дрожжей взаимодействует с поливалентными анти-*RecA* [20, 21]. Однако рибонуклеотидредуктазы в клетках млекопитающих имеют не ядерную, а цитоплазматическую локализацию [22].

Локализацию антигена, узнаваемого анти-*RecA*, изучали на нефик-

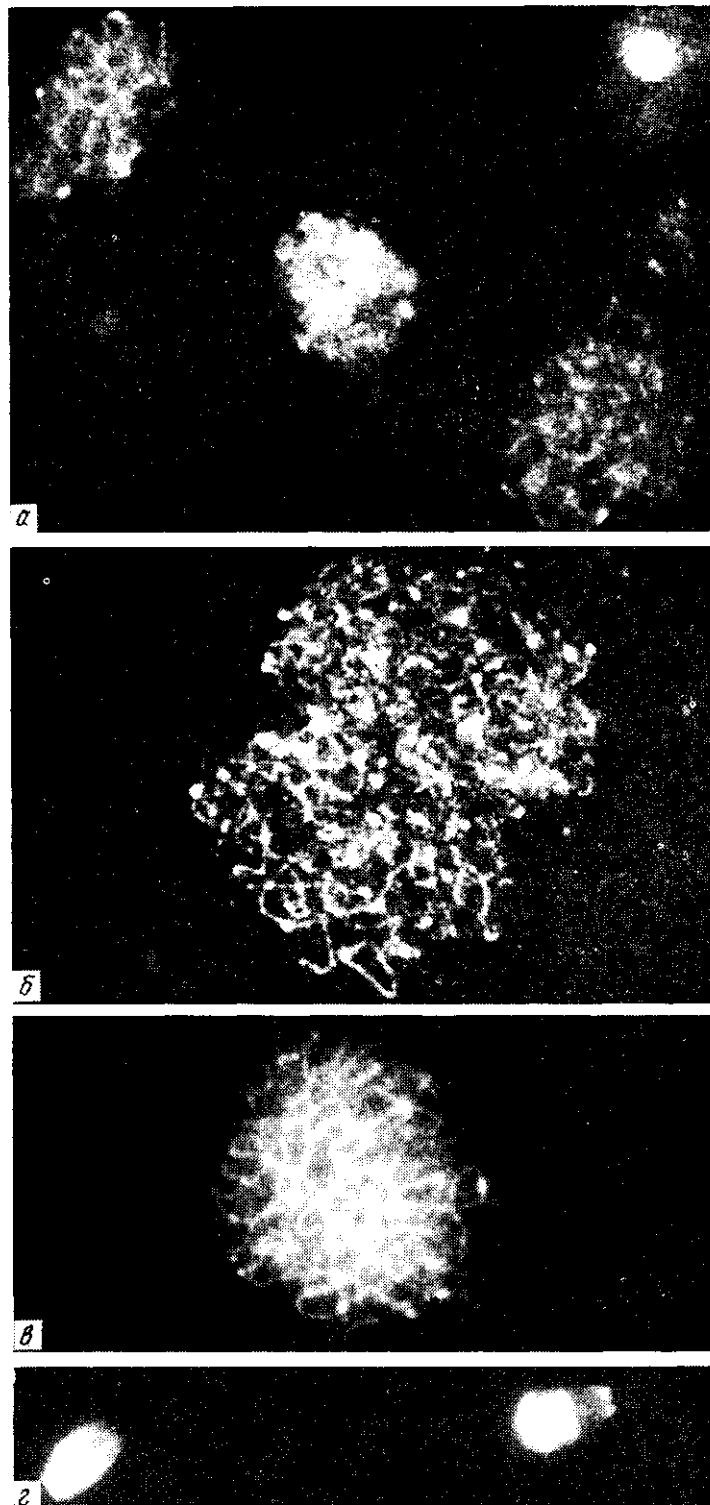


Рис. 3. Иммунофлуоресценция нефиксированных ядер, выделенных из бычьих семенных жидков. Препараты инкубировали 1 ч с анти-*RecA* (разбавление 1/200—1/500): *а* — пахитенные ядра, стрелкой отмечено ядро соматической клетки; *б, в* — коровые структуры пахитенных ядер с гипотетическими рекомбинационными узлами; препарат *в* дополнительно окрашен флуоресцентным красителем для выявления ДНК — йодистым пропидием (ИП; 0,5—1 мкг/мл); *г* — сперматозоиды; *а, г.* —  $\times 1500$ ; *б, в* —  $\times 1900$

сированных препаратах ядер, выделенных из клеток бычьих методом непрямой иммунофлюоресценции (рис. 3). Характер ления антигена в ядрах соматических клеток, а также в яд паходящихся на разных стадиях мейоза, существенно разл соматических клетках ядро окрашивается анти-RecA от слабо и однородно. Более ярко, как правило, светится ядр

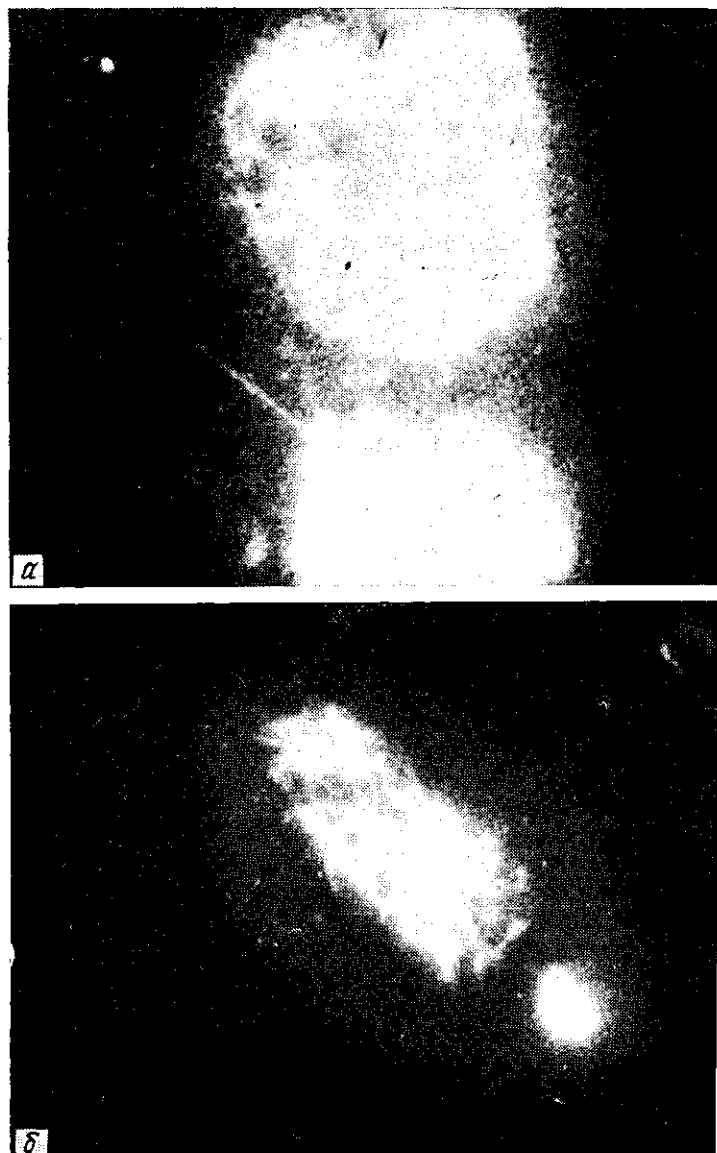


Рис. 4. Иммунофлюоресценция нефиксированных пахитенных ядер по 0,2 %-ным тритоном X-100, затем ДНКазой I (200 ед. акт/мл) (а) и экстракции 2 М NaCl (б). Препараты инкубировали 1 ч с анти-RecA 1/200) и дополнительно окрашивали ИП (0,5—1 мкг/мл); а —  $\times 1900$ ; б

переходе к пахитене в ядрах четко выявляются коровые хромосом, что предполагает формирование латеральных эл (рис. 3, а). В ранней пахитене коровые структуры содержатся тящиеся точки, имеющие в ряде случаев теломерную (рис. 3, б). В отдельных ядрах выявляются только светя Размеры и локализация этих точек дают основания предп это так называемые рекомбинационные узлы, возникак образования хиазм. В поздней пахитене рекомбинации исчезают.

При дополнительном окрашивании препаратов флюоресцентным красителем, специфичным для ДНК,— йодистым пропидием — компоненты СК, имеющие зеленое свечение, обнаруживаются в окружении ДНК, светящейся красным цветом (рис. 3, в).

Клетки конечных этапов сперматогенеза (сперматиды и сперматозоиды) обнаружили иное распределение флюоресценции. В сперматозоидах антиген выявлялся по чрезвычайно яркому свечению дорсальной или акросомальной областей головки (рис. 3, г), что предполагает транспортровку антигена сперматозоидами.

Взаимодействие анти-*RecA* с ядерными структурами мейотических клеток быка строго специфично: обработка препаратов иммуноглобулинами неиммунизированных кроликов, а также анти-IAP, реагирующими на иммуноблотах с гистоновыми белками, не вызывает свечения ядер.

Предварительная обработка препаратов тритоном X-100 и 2 М NaCl несколько снижает интенсивность свечения, однако регистрируемые структуры СК в пахитенных ядрах сохраняются. При обработке препаратов ядер ДНКазой I коровые структуры хромосом утрачивают четкость, а ядра окружает светящееся галло, образованное диссоциированным антигеном (рис. 4, а). Последующая экстракция 2 М NaCl усиливает этот эффект (рис. 4, б). О степени влияния ДНКазы I свидетельствует отсутствие красного свечения после окрашивания препаратов йодистым пропидием.

Необходимо отметить, что структуры СК четко выявляются анти-*RecA* лишь на препаратах нефиксированных ядер, при фиксации же ядра приобретают диффузную окраску.

Обнаруженные нами белки, специфически реагирующие с анти-*RecA*, как по молекулярным массам, так и по локализации отличаются от описанных ранее компонентов СК. Так, моноклональные антитела к выделенным СК крысы обнаруживают два белка с молекулярными массами 30 000 и 33 000, входящих в состав коровых структур мейотических хромосом [23—25]. Поливалентные антитела к топоизомеразе II — одному из компонентов остова митотических хромосом — взаимодействуют с коровыми структурами пахитенных ядер, но не с рекомбинационными узлами [26]. Кроме того, все эти антигены не выявляются в сперматозоидах.

В цитированной выше работе [10] описан белок *mAi-rec* (40 000), выделенный из половых клеток мыши, который реагирует с поливалентными антителами к белку *RecA* из *E. coli*. Этот белок способен катализировать АТР-независимый перенос нити ДНК, т. е. по своим ферментативным свойствам напоминает рекомбиназную активность, описанную нами в ядрах клеток семенников крысы [9]. Хотя авторы не выявили в ядрах мейотических клеток структур, описанных в настоящей работе, с учетом всех наших наблюдений кажется весьма вероятным, что обнаруженный нами антиген представляет собой АТР-независимую синаптазу размером 40 000.

В настоящее время мы проводим исследования, направленные на выяснение природы антигенов, выявляемых анти-*RecA* и предположительно являющихся компонентами СК.

Авторы благодарят Е. А. Намсараева за предоставление препарата белка *RecA* из *E. coli*; Е. И. Шварца — за помощь в иммунизации животных; А. А. Зверева — за помощь в подготовке иллюстративного материала к печати.

## Резюме

Полівалентні антитіла до білка *RecA* із *E. coli* (анти-*RecA*) специфічно взаємодіють з поліпептидами, що мають молекулярну масу 40 000 і 90 000, із пахитенних ядер клітин сім'яників бика. Як показано методом непрямої імуофлюоресценції, анти-*RecA* на

нефіксованих препаратах цих ядер виявляють рівномірно зафарбовані корові структури мейотичних хромосом із яскраво зафарбованими вузлами (іноді тіломірної локалізації) в оточенні ДНК, що пофарбована йодистим пропідієм. Ця картина передбачає зв'язування анти-*RecA* з компонентами синаптонемального комплексу, яке чітко виражене в пізніх рекомбінаційних вузлах при утворенні ліазм. У передмейотичних клітинах анти-*RecA* фарбують ядро слабше і дифузійно, а в сперматозоїдах антиген виявляється, як правило, в спинній та акросомальній частині голівки. Попередня обробка препаратів ядер тритоном X-100 і 2 М NaCl трохи знижує інтенсивність свічення, але зберігає корові структури, тоді як обробка ДНКазою I з подальшою екстракцією 2 М NaCl викликає помітну дисоціацію антигену.

#### Summary

Polyvalent antibodies to *RecA* protein of *E. coli* (anti-*RecA*) interact specifically with 40- and 90-kDa polypeptides from pachytene nuclei of bull testes. As it was shown by the indirect immunofluorescence technique, using of the anti-*RecA* in unfixed isolated nuclei at different meiotic stages revealed the uniform staining of fine meiotic chromosome cores with bright staining dots (sometimes of telomeric localization) surrounded by DNA counterstaining with propidium iodide. This picture suggests binding of anti-*RecA* with components of synaptonemal complexes that is expressed more brightly in the recombination nodules during chiasma formation. The staining by anti-*RecA* was more feeble and diffusible in premeiotic cells. In spermatozoa antigens are revealed in the dorsal or acrosome-like material of their heads.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Cox M. M., Lehman I. R. Enzymes of general recombination // Ann. Rev. Biochem.—1987.—**56**.—P. 229—262.
2. Kenne K., Ljungquist S. A. A DNA-recombinogenic activity in human cells // Nucl. Acids Res.—1984.—**12**, N 7.—P. 3057—3068.
3. General recombination mechanisms in extracts of meiotic cells / Y. Hotta, S. Tabata, R. A. Bouchard et al. // Chromosoma.—1985.—**93**, N 2.—P. 140—151.
4. Cassuto E., Lightfoot L.-A., Howard-Flanders P. Partial purification of an activity from human cells that promotes homologous pairing and the formation of heteroduplex DNA in the presence of ATR // Mol. and Gen. Genet.—1987.—**208**, N 1.—P. 10—14.
5. Characterization of an ATP-dependent DNA strand transferase from human cells / D. Ganea, P. Moore, L. Checurei, R. Kucherlapati // Mol. and Cell Biol.—1987.—**7**, N 9.—P. 3124—3130.
6. Hsieh P., Meyn M. S., Camerini-Otero R. D. Partial purification and characterization of a recombinase from human cells // Cell.—1986.—**44**, N 3.—P. 885—894.
7. Lopez B., Rousset S., Coppey J. Homologous recombination intermediates between two duplex DNA catalyzed by human cell extracts // Nucl. Acids Res.—1987.—**15**, N 14.—P. 5643—5655.
8. Moore S. P., Rich A., Fishel R. The human recombination strand exchange process // Genome.—1989.—**31**, N 1.—P. 45—52.
9. **Изучение** рекомбинационной активности в экстрактах клеток млекопитающих / А. Г. Ахмедов, Е. А. Намсараев, Е. М. Зайцева и др. // Биополимеры и клетка.—1990.—**6**, № 2.—С. 38—45.
10. ATP-independent strand transfer protein from murine spermatocytes, spermatids, and spermatozoa / A. Higashitani, S. Tabata, T. Ogawa et al. // Exp. Cell. Res.—1990.—**186**, N 2.—P. 317—323.
11. Giroux C. N. Chromosome synapsis and meiotic recombination // Genetic recombination / Eds R. Kucherlapati, G. Smith.—Washington: Amer. Soc. Microbiol., 1988.—P. 465—496.
12. *KIN*, a mammalian nuclear protein immunologically related to *E. coli RecA* protein / J. F. Angulo, P. L. Moreau, R. Maunoury et al. // Mutat. Res.—1989.—**217**, N 2.—P. 123—134.
13. Hotta Y., Stern H. Meiotic protein in spermatocytes of mammals // Nature New Biol.—1971.—**234**, N 1.—P. 883—886.
14. Cox M. M., McEntee K., Lehman I. R. A simple and rapid procedure for the large scale purification of the *recA* protein of *E. coli* // J. Biol. Chem.—1981.—**256**, N 9.—P. 4676—4678.
15. Жатон Ж.-К., Брандт Д. Ч., Вассалли П. Выделение и характеристика иммуноглобулинов, антител и их полипептидных цепей // Методы исследований в иммунологии.—М.: Мир, 1981.—С. 58—82.
16. Клонирование и характеристика гена *recA* из *P. aeruginosa* / Е. Н. Зайцев, Е. М. Зайцева, И. В. Бахланова и др. // Генетика.—1986.—**22**, № 11.—С. 2721—2727.

17. *Laemmli U. K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*.— 1970.— 227, N 5289.— P. 680—685.
18. *Granules 25—30 nm in diameter: Basic constituent of the nuclear matrix, chromosome scaffold, and nuclear envelope* / P. Engelhardt, U. Plagens, I. B. Zbarsky, I. S. Filatova // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*.— 1982.— 79, N 22.— P. 6937—6940.
19. *Thelander L., Berg P.* Isolation and characterization of expressible cDNA clones encoding the M1 and M2 subunits of mouse ribonucleotide reductase // *Mol. and Cell. Biol.*— 1986.— 6, N 10.— P. 3433—3442.
20. *A yeast protein analogous to E. coli RecA protein whose cellular level is enhanced after UV-irradiation* // J. F. Angulo, J. Schwencke, P. L. Moreau et al. // *Mol. and Gen. Genet.*— 1985.— 20, N 1.— P. 120—124.
21. *Elledge S., Davis R.* Identification and isolation of the gene encoding the small subunit of ribonucleotide reductase from *S. cerevisiae*: DNA damage-inducible gene required for mitotic viability // *Mol. and Cell. Biol.*— 1987.— 7, N 7.— P. 2783—2793.
22. *Localization of ribonucleotide reductase in mammalian cells* / Y. Engstrom, B. Ruzell, H.-A. Hanson et al. // *EMBO J.*— 1984.— 3, N 3.— P. 863—867.
23. *Identification of two major components of the lateral elements of synaptonemal complexes of the rat* / C. Heyling, P. B. Moens, W. van Raamsdonk et al. // *Eur. J. Cell. Biol.*— 1987.— 43, N 1.— P. 148—154.
24. *Two major components of synaptonemal complexes are specific for meiotic prophase nuclei* / C. Heyling, R. J. Dettmers, A. J. J. Dietrich et al. // *Chromosoma*.— 1988.— 96, N 2.— P. 325—332.
25. *Synaptonemal complex antigen location and conservation* / P. B. Moens, C. Heyling, A. J. J. Dietrich et al. // *J. Cell. Biol.*— 1987.— 105, N 1.— P. 93—103.
26. *Moens P. B., Earnshaw W. C.* Anti-topoisomerase II recognizes meiotic chromosome cores // *Chromosoma*.— 1989.— 98, N 2.— P. 317—322.

Отдел вирусологии Ун-та, Хельсинки  
Ленингр. ин-т ядер. физики им. Б. П. Константинова  
АН СССР, Гатчина

Получено 05.07.90

УДК 577.152.1

А. Л. Шварцман, А. Ковальская, М. И. Страхова, В. С. Гайцхоки

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ АЛЬФА<sub>1</sub>-АНТИТРИПСИНА

*Проведено сравнение трех различных методов ДНК-диагностики наследственной недостаточности альфа<sub>1</sub>-антитрипсина (АТ), основанных на анализе Z-мутации во фрагменте экзона V гена АТ, амплифицированного в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Показано, что методы гибридизации с аллель-специфическими олигонуклеотидами, альтернативного праймирования и прямого секвенирования выявляют гетеро- и гомозиготное носительство Z-аллеля и могут быть использованы для пренатальной диагностики наследственной недостаточности АТ.*

**Введение.** Наследственная недостаточность АТ встречается с частотой 1/1000—1/2000 в популяциях людей белой расы в Северной Америке и Европе [1, 2]. В подавляющем большинстве случаев заболевание обусловлено единичной аминокислотной заменой в позиции 342<sup>Glu</sup>→<sup>Lys</sup> полипептидной цепи АТ [1, 2]. У 15—17 % носителей этой мутации (Z-аллеля) наблюдается развитие в детском возрасте гепатита и прогрессирующего цирроза печени, но в большинстве случаев в более позднем возрасте развивается первичная эмфизема легких [2, 3]. За последнее время накоплен большой опыт пренатальной диагностики АТ [2—6]. Однако не все использованные при этом методы представляются адекватными. Так, исследование полиморфизма длин рестриционных фрагментов, неравновесно сцепленного с Z-аллелем гена АТ, характеризовалось рядом существенных ограничений, связанных, в первую очередь, с необходимостью предварительного скрининга популяции,

© А. Л. ШВАРЦМАН, А. КОВАЛЬСКАЯ, М. И. СТРАХОВА, В. С. ГАЙЦХОКИ, 1991