

**Малых-Бахтина М.П., Антосюк О.Н.
УЧЕТ СОМАТИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИИ (МОЗАИЦИЗМА) У
ДРОЗОФИЛЫ**

МАОУ Гимназия №9
Екатеринбург, Российская Федерация

**Malykh-Bakhtina M.P., Antosuk O.N.
ACCOUNTING FOR SOMATIC RECOMBINATION (MOSAICISM) IN
DROSOPHILA MELANOGASTER**

Municipal educational institution Gymnasium №9
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: mascha.malyh2012@yandex.ru

Аннотация. Актуальность работы связана с важностью тестирования препаратов на генотоксичность. Исследование мутагенности новых фармакологических средств и вспомогательных компонентов лекарственных форм проводится на этапе доклинического изучения безопасности их применения. Эта работа предусматривает оценку способности лекарственных средств к индукции разных типов мутаций в зародышевых и соматических клетках и делает необходимым использование для оценки мутагенных свойств лекарств комплекса методов, выполняемых на разных тест-объектах. Это позволяет исключить влияние препарата в качестве мутагена на организм, предотвращает нежелательные воздействия на пациента.

Annotation. The relevance of the work is associated with the importance of testing drugs for genotoxicity. The study of mutagenicity of new pharmacological agents and auxiliary components of dosage forms is carried out at the stage of preclinical study of safety of their application. This work provides an assessment of the ability of drugs to induce different types of mutations in embryonic and somatic cells and makes it necessary to use a set of methods performed on different test objects to assess the mutagenic properties of drugs. This eliminates the effect of the drug as a mutagen on the body, prevents unwanted effects on the patient.

Ключевые слова: *Drosophilamelanogaster*, соматический мозаицизм, цитостатики.

Key words: *Drosophila melanogaster*, somatic mosaicism, cytostatic.

Введение

Цитостатики – широко применяемые в лечение онкологических заболеваний препараты. Их действие направлено на частичное подавление либо полное угнетение деления всех клеток. Цитостатические препараты назначают пациентам при устойчивости к обычным видам терапевтического воздействия. Но общая токсичность цитостатиков высока, многие исследователи ведут поиск

того, как, не уменьшая апоптическую интенсивность, снизить токсическое проявление. Для этого проводятся различные тесты, определяющие генотоксичность цитостатиков.

Цель исследования - целью данного метода является интегральное выявление рекомбинационных и других мутационных событий, индуцируемых лекарственным веществом или его метаболитами в соматических клетках личинок дрозофилы. В основе метода лежит учет мозаичных пятен, возникающих у мух тестируемых линий в результате комплексного нарушения генотипа: митотической рекомбинации, потери хромосом и/или их фрагментов, транслокаций, делеций и генных мутаций. В качестве маркерных использовались гены «у» и «sn3» в трансположении. Под соматической рекомбинацией понимают обмен генетическим материалом между гомологичными хромосомами соматических клеток в митозе, приводящий к образованию мозаичных особей. При использовании в качестве маркеров рецессивных генов возможно выявление генных мутаций, делеций, митотических рекомбинаций и генных конверсии.

Материалы и методы исследования

Всего в эксперименте определяли эффект 3 различных концентраций препарата «Х». Эксперимент был поставлен в УРФУ в лаборатории экологической генетике. Длительность экспозиции составила 72 ч. Статистическую обработку результатов проводили с использованием Х²-критерия, сравнивая частоту появления особей с пятнами в контрольных и опытных сериях. Для учета соматического мозаицизма использовались следующие линии дрозофилы: 1) линия 1 — yellow — генотип у/у (у — рецессивный ген, обуславливающий развитие желтой окраски тела и щетинок); 2) линия 2 — w, sn3 — генотип w sn3/Y (w — white — белая окраска глаз, sn3 — singed3 — извитая скрученная форма щетинок; оба гена рецессивные).

В работе использовался пероральный способ введения тестируемых веществ (с кормом), тестируемый препарат «Х» растворим в воде. Раствор 0.25 мл наносился равномерно на поверхность питательной среды, в контроль вносилось 0.25 мл воды. Токсичность фармакологических средств устанавливали по гибели особей на постэмбриональном этапе развития лабораторной линии «Oregon-R», которая на максимальной из использованных концентраций не должна быть более 50%.

Проведение эксперимента: девственных самок в количестве 10 особей подсаживали в пробирку, содержащую стандартную питательную среду вместе с 5 самцами. Через 72 ч родителей убирали из пробирок, а в прежние пробирки вносили растворы испытуемого препарата «Х» дозами 0.1, 0.5 и 1 г/кг. После вылета имаго, их просматривали на наличие мутантных составляющих в фенотипе. При скрещивании самок линии 1 с самцами линии 2 у гетерозиготных самок первого поколения, имеющих генотип у+ / +w sn3, зарегистрированы мутантные щетинки (макрохеты на голове, тораксе и скутеллюме) фенотипа yellow и singed.

Результаты исследования и обсуждения

1) Контроль: 1 повторность: посажены 300: личинки умерли 123, куколки умерли 5, общая летальность 42,67. 2 повторность: посажены 300, личинок умерло 188, куколки 8, общая летальность 65,33. 3 повторность: посажены 300, личинок - 110, куколки 4, общая летальность 38.ЛД (летальное действие) по трём повторностям: 48,67%;

2) По концентрации препарата 0,1г/кг: 1 повторность: посажены 300: личинки умерло 132, куколки нет; 2 повторность: 300 посажено, личинок умерло 133, куколки нет; 3 повторность 300: личинок 181, куколки нет; ЛД 49,6%;

3) По концентрации препарата 1г/кг: 1 повторность: посажены 300: личинки умерло 118, куколки 8; 2 повторность: 300 посажено, личинок умерло 118, куколки 3; 3 повторность 300: личинок 123, куколки 6; ЛД 41,89%;

4) По концентрации препарата 5г/кг: 1 повторность : посажены 300: личинки умерло 126, куколки 17; 2 повторность: 300 посажено, личинок умерло 136, куколки 19; 3 повторность 196: личинок 104, куколки 6; ЛД 51,82%.

Результаты экспериментов представлены ниже в таблице (Табл.1).

Таблица 1

Учет соматического мозаицизма при использовании маркеров у, w и sn3

Препарат концентрация/ экспозиция	Общее число просмотренных самок	Число самок с мутациями			всего пятен	% ± m*
		Пятен «у»	Пятен «sn3»	Пятен «у sn3»		
«X»/ 72 ч						
контроль	249	0	1	0	1	0.4±0.06
Аминоптерин (цитостатик)	235	0	3	0	3	1.41±0.07
0.1	391	0	1	0	1	0.256±0.05
0.5	366	0	3	0	3	0.82±0.05
1	381	0	4	0	4	1.05±0.05

Для сравнения полученных данных по цитостатикам с результатами, полученными по другим цитостатическим препаратам, была взята статья

Неупокоевой О.В. «Влияние тиофана и экстракта трансформированных корней шлемника байкальского на индуцированный мутагенез» [1]. (Табл.2).

Таблица 2

Генотоксичность различных цитостатических препаратов

Выводы:

Препарат концентрация/ экспозиция	Общее число просмотренных самок	Число самок с мутациями			Всего пятен	% ± m*
		пятен «у»	пятен «sn3»	пятен «у sn3»		
контроль	1000	2	3	0	5	0.5±0.03
Цисплатин 0.009 % (цитостатик)	1154	28	61	4	93	8±0.03
Циклофосфан 0.03%	1096	67	26	0	93	8.48±0.03
Паклитаксел (С47Н51И О14) 0.005%	1336	37	26	0	63	4.7±0.03

1. При воздействии аминоптерина наблюдается выраженный токсический эффект в отношении всех показателей жизнеспособности относительно контроля и всех остальных экспериментальных групп.

2. Установлено влияние тестируемого препарата-цитостатика X на жизнеспособность линии Oregon-R, но менее выраженное, чем при воздействии только аминоптерина.

3. Предполагается, что тестируемый препарат может быть использован в качестве нового цитостатического препарата с меньшей токсичностью, чем аминоптерин (цитостатическое средство, являющееся наиболее активным цитостатиком-антагонистом (конкурентом) фолиевой кислоты, отличается высокой токсичностью).

Список литературы:

1. Неупокоева О.В. Влияние тиофана и экстракта трансформированных корней шлемника байкальского на индуцированный мутагенез: автореф. ... канд. биол. наук. — Томск, 2015. — с. 24.