been influenced by low-dosed irradiation. The critical developmental stages a prenathal one for females and the first postnathal days for males, because of the formation of most stem spermatagonia in testis taking start at this period.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Шевченко В. А., Померанцева Л. Д.* Генетические последствия действия ионизирующих излучений.— М.: Наука, 1985.— 278 с.
2. *Померанцева Л. Д., Балонов М. И., Рамайя Л. К. и др.* Сравнительное изучение генетического эффекта различных соединений трития у самцов мыши // Генетика.— 1989.— 25, № 2.— С. 277—282.
3. *Pomerantseva L. D., Ramaya L. K., Shevchenko V. A. et al.* Evolution of the genetic effects of 238 Pu incorporated into mice // Mutat. Res. and Mutat. Res. Lett.— 1989.— 226, N 2.— P. 93—98.
4. *Бочарова Л. П., Василенко О. В., Стрельникова Н. К.* Зависимость изменений репродуктивной функции мышей от дозы локального облучения, проведенного в разные сроки до и после зачатия // Радиац. гигиена.— Л., 1989.— С. 75—81.
5. *Померанцева Л. Д., Рамайя Л. К.* Выход генетических нарушений у мышей, подвергшихся фракционированному воздействию ионизирующих излучений в эмбриогенезе // Радиобиология.— 1989.— 30, № 3.— С. 339—343.
6. *Yamada T., Ohata K., Fujii I. et al.* Estimation of the absorbed radiation dose of mouse foetus taken from tritium water-drinking pregnant mouse // J. Radiat. Res.— 1991.— 32, N 1.— P. 91.
7. *Hande P., Uma D., Jagetia G. C.* Effect of in utero-exposure to low doses of low energy X-rays on the postnatal development of mouse // Ibid.— 1990.— 31, N 4.— P. 354—360.
8. *Ricoul M., Dutrillaux B.* Hyper-radiosensibilite chromosomique des souris en fin de gestation // C. R. Acad. Sci. Res.— 1991.— 312, N 13.— P. 635—639.
9. *Hoower-Plow J., Elliot P., Moynier B.* Reproductive performans in C57Bl and I strain mice // Lab. Anim. Sci.— 1988.— 38, N 5.— P. 525—602.
10. *Spiengelmann M., Bennet D.* A light and electron-microscopic study of primordial germ cells in the early mouse embryo // J. Embryol. and Exp. Morphol.— 1973.— 30.— P. 97—118.
11. *Агарков В. А., Дунаев Н. В., Пантелеев С. М. и др.* Реакция тканей различной генетической природы на воздействие ионизирующей радиации // Влияние антропогенных факторов на морфогенез и структурное преобразование органов: Материалы Всерос. конф. Всерос. науч. о-ва анатомов, гистологов, эмбриологов.— Астрахань, 1991.— С. 5.
12. *Померанцева Л. Д., Рамайя Л. К.* Мутагенный эффект излучений разных видов на половые клетки самцов мыши // Генетика.— 1969.— 5.— С. 103—112.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН Украины, Киев Получено 02.11.92

УДК 575.1:577.1

В. И. Прима, Е. И. Мартыненко, Л. В. Патер, Ю. В. Вагин

ПЕРЕСТРОЙКИ ДНК В РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ С ПОМОЩЬЮ «ГЕНОМНОЙ ДАКТИЛОСКОПИИ»

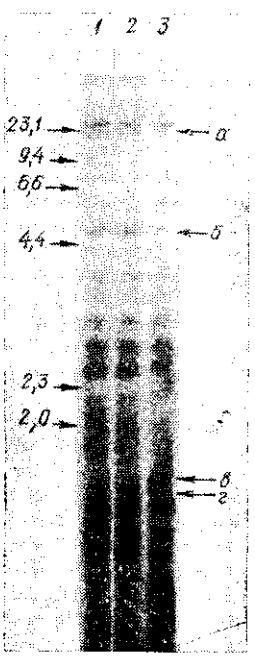
С помощью «геномной дактилоскопии» в клетках печени крысы, регенерирующей 23 ч, обнаружены изменения авторадиографического «отпечатка ДНК» в области 1.5–9 тыс. п. о. по сравнению с клетками той же печени в состоянии покоя, что может объясняться избирательной недорепликацией хромосом делящихся гепатоцитов.

Метод «геномной дактилоскопии» (или генотипоскопии) разработан при изучении полиморфизма рестрикционных фрагментов ДНК человека путем гибридизации с «миниспутниковой» ДНК, т. е. тандемными повторами коротких последовательностей (11—60 п. о.) генома человека [1]. В дальнейшем оказалось, что гипервариабельные участки, гомологичные минисателлитным последовательностям, находятся в ДНК не только человека, но и всех млекопитающих, а также птиц, причем «отпечаток ДНК», проявляемый в виде набора полос с различным положением и интенсивностью, генетически закреплен для каждого индивидуума и одинаков для всех его тканей. Это обусловило широкое применение метода в популяционной генетике, генеалогических иссле-

© В. И. Прима, Е. И. Мартыненко, Л. В. Патер, Ю. В. Вагин, 1993

дованиях, судебной медицине и в криминалистике [2, 3]. Однако приложение генотипоскопии к исследованию злокачественных опухолей показало, что для некоторых из них наблюдаются изменения «отпечатка ДНК» по сравнению с нормальными клетками данного организма (цит. по [3]). Это привело нас к мысли провести сравнительную генотипоскопию другого вида активно делящихся клеток — регенерирующей печени млекопитающих.

Регенерацию печени белых крыс стимулировали путем частичной гепатэктомии, как описано [4]. Ядерную ДНК выделяли согласно [5] из клеток удаленных в начальный момент долей печени и оставшихся долей той же печени на 23-й ч после операции. Также выделяли ДНК из головного мозга забитой крысы. По 10 мкг ДНК гидролизовали рестриктазой *HaeIII*, фракционировали электрофорезом в 1 %-м агарозном геле (16 см) и переносили на капроновый фильтр (Р/К «Хийу Калур», Таллинн) вакуумным блотом [6]. В качестве зонда использовали участок начала *env*-гена ВИЧ-1 (названный авторами, клонировавшими его, «*red*-1» [7]). Вставку ВИЧ-*red*-1 выделяли из *pUC13*, в которой он был клонирован, и метили ^{32}P с помощью статистической затравки и фрагмента Кленова [8]. Гибридизацию фильтров проводили в растворе 7 %-го DS-Na, 0,263 М Na-фосфата, 1 %-го БСА, 1 мМ ЭДТА (50 °С, 16—18 ч). Отмывку вели в растворе 2×SSC, 0,1 % DS-Na (42 °С, 2 ч). Далее фильтры экспонировали на пленке РМВ с усиливающим экраном ЭУ-В2 в течение 5—7 сут. На рисунке представлены результаты генотипоскопии ДНК печени в различных состояниях и ДНК мозга одного и того же животного. Совпадение полос для ДНК мозга и покоящейся печени иллюстрирует тканевую независимость и индивидуальную специфичность «отпечатка ДНК» для клеток в нормальном состоянии. С другой стороны, как минимум три полосы (*а*, *б*, *г*) в диапазоне около 1,5—9 тыс. п. о., присутствующие на «отпечатке ДНК» покоящихся гепатоцитов, значительно ослаблены или исчезли, а одна полоса (*в*) появилась дополнительно на «отпечатке ДНК» через 23 ч после частичной гепатэктомии. Как известно, регенерирующая печень является системой достаточно хорошо синхронизированных делящихся клеток, и к этому моменту в них достигается максимум синтеза ДНК [9]. По-видимому, отмечаемые изменения «отпечатка ДНК» отражают избирательность недорепликации хромосом гепатоцитов в середине S-фазы.



Гибридизация *HaeIII*-рестрикционных фрагментов ДНК крысы с зондом *red-1*: *1* — ДНК мозга; *2* — ДНК исходной печени; *3* — ДНК печени, регенерирующей 23 ч. Слева указаны маркеры молекулярной массы (тыс. п. о.), справа — различия «отпечатков ДНК»

В какой-то мере наблюдаемая картина напоминает характер изменений «отпечатков ДНК» для злокачественных опухолей, которые также чаще проявляются в виде утраты некоторых гипервариабельных аллелей по сравнению с нормой (цит. по [3]).

Интересно отметить, что гомологичный гипервариабельным участкам генома человека зонд *red-1* — фрагмент *env*-гена ВИЧ-1 — может успешно применяться также для генотипирования ДНК и других млекопитающих, в данном случае крыс.

Авторы выражают признательность Е. И. Рогаеву за предоставление зонда *red*-1.

Summary. By means of genomic fingerprinting in the cells of regenerating 23 h rat liver were revealed alterations of DNA fingerprint (in the region 1,5—9 kb) comparatively to cells of the same liver at rest. It may be explained by selective under-replication of chromosomes of deviding hepatocytes.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Jeffreys A. J., Wilson V., Thein S. L.* Hypervariable «minisatellite» regions in human DNA // Nature.— 1985.— **314**.— P. 67—73.
2. *Иванов П. Л.* Геномная дактилоскопия: гипервариабельные локусы и генетическое маркирование // Молекуляр. биология.— 1989.— **23**, № 2.— С. 341—346.
3. *Анализ* генома / Под ред. К. Дейвиса.— М. : Мир, 1990.— 246 с.
4. *Higgins G. M., Anderson R. M.* Experimental pathology of the liver // Arch. Pathol.— 1931.— **12**, N 2.— P. 186—202.
5. *Новое* в клонировании ДНК. Методы / Под ред. Д. Гловера.— М. : Мир, 1989.— 368 с.
6. *Olszewska E., Jones K.* Vakuum blotting enhances nucleic acid transfer // Trends Genet.— 1988.— **4**, N 4.— P. 92—94.
7. *Рогаев Е. И., Ленский А. Б.* Зонд ДНК, содержащий элементы гена поверхностного гликопротеина вируса ВИЧ-1,— эффективный молекулярный маркер для генотипоскопии человека // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1990.— № 12.— С. 646—647.
8. *Hodgson C. P., Fisk R. Z.* Hybridization probe size control: optimized «oligolabelling» // Nucl. Acids Res.— 1987.— **15**, N 15.— P. 6295.
9. *Grisham J. W.* Morphologic study of deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in regenerating liver: autoradiography with ^{3}H-thymidine // Cancer Res.— 1962.— **22**, N 5.— P. 842—849.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН Украины, Киев Получено 27.11.92

УДК 577.37

**В. Д. Крупин, С. А. Курилко,
В. Н. Ткаченко, Г. П. Горбенко, В. В. Товстяк**

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОНОВ НА ТРАНСПОРТ КАЛИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ

Исследовано влияние электронов с энергией 5 МэВ на проницаемость мембран эритроцитов для ионов K^+. Показано, что радиационно-индуцированное усиление выхода K^+ зависит от температуры инкубации клеточной суспензии.

Введение. Известно, что одним из факторов, определяющих радиационное повреждение клеток, является изменение ионной проницаемости плазматических мембран [1—4]. Нарушение процессов транспорта ионов при воздействии радиации проявляется, в частности, в уменьшении содержания внутриклеточного калия [5—8]. Несмотря на большое число работ, посвященных изучению этого эффекта, механизмы усиления выхода ионов K^+ из облученных клеток окончательно не выяснены.

В настоящей работе представлены результаты исследования действия электронов с энергией 5 МэВ на проницаемость мембран эритроцитов для ионов K^+.

Материалы и методы. Эритроциты донорской крови отмывали от плазмы трехкратным центрифугированием при 3000 об/мин в течение 10 мин. Клетки суспендировали в среде Хенкса, содержащей (мМ): NaCl — 110; $MgCl_2$ — 0,55; $MgSO_4$ — 0,4; $CaCl_2$ — 0,55; глюкозу — 5,2; $NaHCO_3$ — 24; KH_2PO_4 — 45.

Гематокрит суспензии эритроцитов, используемой в экспериментах, составлял ~25 %. Концентрацию ионов K^+ во внеклеточной среде определяли с помощью валиномицинового электрода.

Суспензию клеток, помещенную в цилиндрические ячейки диаметром 6 и толщиной 1 см, облучали ускоренными электронами с энер-

© В. Д. Крупин, С. А. Курилко, В. Н. Ткаченко, Г. П. Горбенко, В. В. Товстяк, 1993