



БАЛТИЙСКИЙ НАУЧНО-ИНЖЕНЕРНЫЙ КОНКУРС 2019

Санкт-Петербург, 4-7 февраля 2019

Метод сверхраспластывания ядер в профазе I мейоза и детальное исследование хромосом млекопитающих и рептилий

«Биология»

Лосев Михаил Игоревич, Никитин Павел Андреевич, Спангенберг Виктор Евгеньевич (научный руководитель, Кандидат наук), место выполнения работы: Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН

Для исследования хромосом эукариот обычно используют цитогенетические методы на препаратах митотических метафазных хромосом. Структура хромосом в мейозе отличается удивительной пластичностью. Оси хромосом в течение профазы I деления способны изменять длину более чем в два раза. Именно этот факт послужил идеей для разработки нашего метода сверхраспластывания. В нашей работе мы решили модифицировать классический метод распластывания ядер сперматоцитов мыши. Такие препараты активно используются для изучения структуры отдельных хромосом с помощью оптической флуоресцентной микроскопии. Но световые микроскопы имеют известные ограничения, связанные с физическими свойствами видимой части спектра. Поэтому исследования ультраструктуры клеток часто проводят с помощью электронной микроскопии, однако приготовление препаратов для электронной микроскопии сопряжено с необратимыми их изменениями, часть методов иммуноокрашивания значительно усложняется. Таким образом, используя сильные стороны световой флуоресцентной микроскопии, в сочетании с новым методом приготовления сверхраспластанных препаратов, мы предприняли попытку увеличить детализацию в цитогенетических исследованиях.

Методы, использованные в проекте: 1. Получение суспензии сперматоцитов 2. Получение тотальных препаратов стандартно-распластанных синаптонемных комплексов на тефлоне 3. Препараты метафазных митотических хромосом (получали стандартным методом с помощью метанол-уксусной фиксации (Рубцов, 2006) 4. Процедура иммуноокрашивания препаратов 5. Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) с зондами к сателлитной ДНК мыши 6. Флуоресцентная микроскопия

Разработан метод приготовления сверхраспластанных препаратов хромосом в мейозе, опробованный на млекопитающем и рептилии, доказана возможность использования методов иммуноокрашивания и FISH. Исследована структура двух ДНК-сателлитов мыши на препаратах разной степени распластанности хромосом. Выявлены тяжи хроматина, объединяющие хромосомы в единую сеть, по-видимому, обеспечивающую стабильность хромосомных территорий. Детально изучены препараты СК ящерицы *Darevskia raddei*, в некоторых хромосомах обнаружили двойные центромеры.

Разработанный метод - это новый инструмент в руках специалиста в области генетики, позволит проводить более детальные исследования хромосом с использованием антител, методами *in situ* гибридизации. Метод применим в будущем в области биомедицины, при более точном картировании белковых и ДНК-маркеров на хромосомах, при уточнении кариотипирования видов животных, прояснении некоторых проблем эволюции.

Список литературы:

1. Page S. L., Hawley R. S. The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex //Annu. Rev. Cell Dev. Biol. – 2004 – Т 20 – С. 525-558;
2. Богданов Ю. Ф. Белковые механизмы мейоза //Природа. – 2008 – №. 3 – С. 3-9