

Возможность использования различных линий *D. melanogaster* в генотоксикологических исследованиях

Неупокоева О.В., Воронова О.Л., Чурин А.А.

НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ РАН,
634028, г. Томск, проспект Ленина, 3

Исследована индукция мутаций цисплатином у самок дрозофил, несущих маркерные мутации *yellow*, *white*, *singed* в одной хромосоме, при скрещивании с самцами дикого типа *Canton-S*.

Ключевые слова: генотоксичность, соматическая рекомбинация, дрозофила

Для цитирования: Неупокоева О.В., Воронова О.Л., Чурин А.А. Возможность использования различных линий *D. melanogaster* в генотоксикологических исследованиях. *Медицинская генетика* 2020; 19(9): 70-71.

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.70-71

Автор для корреспонденции: Неупокоева Оксана Владимировна; **e-mail:** repaov@mail.ru

Финансирование. Государственное задание, тема № 0550-2019-0013.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 20.05.2020

Possibility of using various *D.melanogaster* lines in genotoxicological studies

Neupokoeva O.V., Voronova O.L., Churin A.A.

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences
Lenin Avenue, 3, Tomsk, 634028, Russia

The induction of cisplatin mutations was studied in female *Drosophila* carrying *yellow*, *white*, *singed* marker mutations on the same chromosome when crossed with wild-type males *Canton-S*.

Keywords: genotoxicity, somatic recombination, *Drosophila melanogaster*

For citation: Neupokoeva O.V., Voronova O.L., Churin A.A. Possibility of using various *D.melanogaster* lines in genotoxicological studies. *Medical genetics*. 2020; 19(9): 70-71. (In Rus).

DOI: 10.25557/2073-7998.2020.09.70-71

Corresponding author: Neupokoeva Oksana Vladimirovna, **e-mail:** repaov@mail.ru

Financing. State assignment, theme № 0550-2019-0013.

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflict of interest.

Accepted: 20.05.2020

В настоящее время исследованию безопасности химических агентов и лекарственных средств уделяется особое внимание, так как повреждения генетических структур соматических и зародышевых клеток становятся причиной возникновения онкологических, наследственных заболеваний, преждевременного старения [1]. В методических рекомендациях по доклиническому исследованию лекарственных препаратов [2] одним из методов тестирования на мутагенность предложен метод соматической рекомбинации (мозаицизма) у *Drosophila melanogaster* с применением маркерных мутаций *yellow* и *singed*. Метод выявляет фенотипические изменения на теле дрозофилы, представленные пигментацией и мутационно-измененной структурой щетинок и волосков. В классическом методе используются две линии дрозофил, каждая из которых обладает рецессивной мутацией.

При скрещивании виргинных самок *yellow* с самцами *singed*, маркерные мутации переходят в гетерозиготное состояние и фенотипически не проявляются, дрозофилы имеют серое тело и крылья, покрыты нормальными волосками и щетинками. Добавление в питательную среду тестируемого вещества может способствовать запуску генотоксических событий, в результате которых происходит фенотипическое проявление мутантных признаков — изменение цвета участка тела и (или) структуры волосков (опаленный вид). Измениться может не весь организм, а лишь один волосок, особь будет являться генетическим мозаиком [3]. Метод доступен в материальном плане, но является довольно трудоемким, так как учитывают только самок, причём, числом не менее 1000 особей. С целью повышения чувствительности метода была опробована новая комбинация этих маркерных мутаций.

Цель: тестирование мутантной линии *D. melanogaster*, где X-хромосома самок маркирована мутациями *yellow*, *white*, *singed* как вариант *SMART*-теста на *D. melanogaster* при оценке потенциальной генотоксичности.

Материалы и методы

Совместно с кафедрой цитологии и генетики НИ ТГУ (ответственный исполнитель Новиков Ю.М.) была получена линия *D. melanogaster*, которая одновременно несла заданные маркерные мутации (*yellow*, *white*, *singed*). Чем больше мутационно нагружена хромосома, тем более она нестабильна и подвержена какому-либо воздействию. Эта способность использована для оценки генотоксичных свойств противоопухолевого препарата цисплатина (*Cisplatin-LANS*, ЛЭНС-ФАРМ ООО, Россия). Инвентарь, инструменты, приготовление питательной среды являются стандартными [4]. Виргинных самок, гомозиготных по рецессивным аллелям указанных генов (в количестве 5 особей) скрещивали с самцами *Canton-S* (3 особи) (дикий тип). Через 48 часов в питательную среду, где уже находились отложенные яйца, добавляли тестируемое вещество, в данном случае — цисплатин, в дозе 10 мг/кг, по 0,1 мл на 5 мл среды. Через 9–10 дней начинали просмотр вылупившихся самок в стереоскопический микроскоп.

В контроле в качестве вводимого агента использовали физиологический раствор. Полученные результаты сравнивали с результатами эксперимента, в котором использовали линии *yellow* и *singed*, и скрещивание проводили в соответствии с “Руководством по доклиническому исследованию лекарственных препаратов”. Результаты статистически обработаны с помощью критерия χ^2 (хи-квадрат).

Результаты

После скрещивания виргинных самок экспериментальной линии *ywsn* с самцами *Canton-S*, через 48 ч в питательную среду добавляли противоопухолевый препарат цисплатин. Анализ вылетевших самок показал, что препарат активизирует процесс митотического кроссинговера и, следовательно, проявляет мутагенную активность. Из 1000 просмотренных са-

мок 77 особей имели на теле структурно измененные волоски и щетинки. При этом в контроле с физиологическим раствором среди 1005 особей было обнаружено 3 самки с подобными пятнами. Различия статистически достоверны и свидетельствует о том, что препарат цисплатин поражает генетический материал личинок дрозофилы и индуцирует образование мутантных пятен на теле самок. При сравнении результатов классически проведенного *SMART*-теста (\varnothing *yellow* \times σ *singed*) и результатов проведенного нами теста использованием скрещивания \varnothing *ywsn* \times σ *Canton-S*, различий не выявлено ($p > 0,8$).

Таким образом, экспериментально полученная линия *D. melanogaster*, в которой X-хромосома самок маркирована мутациями *yellow*, *white*, *singed*, эффективно отвечает на генотоксические воздействия и может быть использована в качестве альтернативы двум мутантным линиям, которые используются в классическом *SMART*-тесте.

Литература

1. Дурнев А.Д., Жанатаев А.К., Шредер О.В. и др. Генотоксические поражения и болезни. *Молекулярная медицина* 2013; 3: 3–19.
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под общей редакцией Миронова А.Н. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
3. Katz A.J. Genotoxic effects of cisplatin in somatic tissue of *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 1987;10:197–203.
4. Медведев Н.Н. Практическая генетика: учебно-методическое пособие. М.: Наука, 1968. 294 с.

References

1. Durnev A.D., Ganataev A.K., Shreder O.V. et al. Genotoxicheskie porazhenia i bolezni [Genotoxic events and diseases]. *Molekularnaia medicina [Molecular medicine]*. 2013; 3: 3–19. (In Russ).
2. Rukovodstvo po provedeniu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennih sredstv. Chast pervay / Pod obchey redakciey Mironova A.N. [Methodical recommendations for preclinical studies of drugs. Part One. Ed. by Mironov A.N.]. M.: Grif I K, 2012. 944 p. (In Russ).
3. Katz A.J. Genotoxic effects of cisplatin in somatic tissue of *Drosophila melanogaster*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 1987;10:197–203.
4. Medvedev N.N. Prakticheskaia genetika: uchebno-metodicheskoe posobie [Practical genetics: teaching aid] M.: Science 1968. 294 p. (In Russ).