



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **117840**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/554 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2017 00809**

(22) Дата подання заявки: **30.01.2017**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.07.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.07.2017, Бюл.№ 13**

(72) Винахідник(и):

Стрижельчик Ніна Георгіївна (UA)

(73) Власник(и):

**ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ В.Н. КАРАЗІНА,
пл. Свободи, 4, м. Харків, 61022 (UA)**

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ МУТАГЕННОСТІ ХІМІЧНИХ ФАКТОРІВ НА DROSOPHILA MELANOGASTER

(57) Реферат:

Спосіб визначення мутагенності хімічних чинників на *Drosophila melanogaster* включає обробку мутагенними чинниками самців, їх схрещення з інтактними віргінними самками та подальший аналіз індукованих домінантних летальних мутацій у їхніх нащадків. Мутагенними чинниками обробляють личинок.

UA 117840 U

Корисна модель належить до галузі генетики, а саме до проблеми індукованого мутагенезу, та може бути використана при створенні інформативних схем для тестування хімічних факторів на мутагенність.

Найближчим аналогом способу, що заявляється, є добре відомий спосіб визначення на мутагенність різноманітних чинників за частотою індукованих домінантних летальних мутацій у статевих клітинах *Drosophila melanogaster*. Зазвичай у разі проведення експериментальних досліджень за методом обліку домінантних летальних мутацій обробці підлягають дорослі самці імаго дрозофіли, яких після обробки хімічними речовинами схрещують з інтактними віргінними самками цієї ж лінії і розміщують в окремих пробірках для подальшого аналізу [1, 2, 3].

Недоліком відомого способу є те, що обробка дорослих самців імаго хімічними чинниками має свої особливості:

1. Для обробки дорослих самців імаго хімічним мутагеном (який розчиняють у 5 % розчині сахарози чи у поживному середовищі) необхідно мати спеціальні "затравочні" камери";

2. Крім цього не відбувається чіткої уяви, усі чи не усі самці отримали дозу мутагену з розчином чи з поживним середовищем.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб визначення мутагенності різноманітних чинників на дрозофілі, у якому за рахунок створення нової сукупності ознак були б значно підвищені: інформативність, надійність, економічність, доступність і експресність способу.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі визначення мутагенності хімічних чинників на *Drosophila melanogaster* шляхом обробки мутагенними чинниками дорослих самців імаго, їх схрещення з інтактними віргінними самками та подальшого аналізу індукованих домінантних летальних мутацій у їхніх нащадків, згідно з корисною моделлю, обробці мутагенними чинниками підлягають не самці імаго, а личинки. Далі вирощені з оброблених личинок самці аналізуються на індукцію в їхніх статевих клітинах летальних мутацій, які призводять до загибелі представників першого покоління нащадків.

Мутагенну активність хімічних чинників при цьому констатують у результаті достовірного перевищення частоти індукованих домінантних летальних мутацій над спонтанним рівнем більш, ніж у 2 рази.

Заявлений спосіб здійснюють шляхом принципово нового підходу, який полягає у визначенні мутагенності хімічних чинників на дрозофілі у результаті аналізу не дорослих самців імаго, оброблених мутагенними факторами, а самців, вирощених із личинок, які підлягали дії мутагенів хімічної природи. Для цього культуру дрозофіли розміщують на поживному середовищі, личинки, що вийшли з відкладених яєць, піддають впливу хімічного мутагену, який міститься у поживному середовищі. Самців, вирощених із цих личинок, схрещують із інтактними віргінними самками і розміщують у окремих пробірках для подальшого аналізу.

У новому способі відпадає необхідність:

1. Використання спеціальних "затравочних" камер для обробки самців хімічним мутагеном, тобто підвищується економічність та зручність виконання способу;

2. Крім цього, при використанні личинок замість дорослих самців імаго дрозофіли (при обробці хімічним мутагеном) підвищується надійність того, що всі особи отримали необхідну дозу мутагену, тобто підвищується надійність оцінки.

Таким чином, нові сукупності суттєвих ознак способу, що заявляється, дозволяють підвищувати інформативність надійність, економічність, зручність, доступність і експресність способу.

Новий спосіб визначення мутагенності хімічних чинників сприяє вирішенню проблеми профілактики індукованого мутагенезу, а саме запобіганню негативного впливу мутагенів різної природи на структури спадковості людини.

Корисна модель ілюструється прикладом

Приклад

Метою дослідження була оцінка інформативності нового способу оцінки мутагенності хімічних чинників на дрозофілі.

Дослідження проводили на *Drosophila melanogaster* лінії дикого типу Canton-S. Вивчали потенційні мутагенні властивості лікарського препарату діоксидину. Для цього культуру дрозофіли розміщували на поживному середовищі, яке містило препарат діоксидин (0,6 мг/мл). У результаті личинки, що вийшли із відкладених яєць піддавались впливу діоксидину. Статистичну обробку одержаних результатів проводили з використанням критеріїв χ^2 та Ст'юдента t [4].

У цій серії досліджень частота домінантних летальних мутацій у контролі становила $4,9 \pm 0,71$ %, Рівень адаптивних ознак за показниками плодючості дрозофіли дорівнював: за кількістю лялечок - $83,1 \pm 4,3$; за кількістю імаго - $79,0 \pm 4,1$.

Результати вивчення впливу препарату діоксидину на статеві клітини дрозофіли наведено в табл. 1-3. Всього було проаналізовано: 2930 лялечок та 2664 імаго.

В умовах впливу діоксидину частота домінантних летальних мутацій була статистично значуще більшою порівняно з контролем у 3,1 разу.

Частота домінантних летальних мутацій становила $15,2 \pm 1,8$ % ($\chi^2 = 48,8$; $p < 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив діоксидину на частоту домінантних летальних мутацій у статевих клітинах дрозофіли

Концентрація (мг/мл)	Проан. культур дрозоф.	Частота ДЛМ, %, $M \pm m$	Значення	
			χ^2	p
Контроль				
-	10	4,9±0,71	-	-
Діоксидин				
0.6 мг/мл	10	15.2±1.8	48.8	<0.01

Підвищення частоти домінантних летальних мутацій у варіанті використання діоксидину, у свою чергу, спричинило статистично значуще меншу плодючість дрозофіли порівняно з контролем за кількістю лялечок на $31,4$ %, що становило $57,0 \pm 3,8$ % (табл. 2), за кількістю імаго на $38,8$ % - $48,3 \pm 3,0$ % ($t_1 = 5,6$; $t_2 = 6,1$; $p < 0,05$) (табл. 3).

Таблиця 2

Вплив діоксидину на рівень показників плодючості дрозофіли (за кількістю лялечок)

Концентрація (мг/мл)	Проан. культур дрозоф.	Кількість лялечок M±m	Значення	
			χ ²	P
Контроль				
-	10	83,1±4,3	-	-
Діоксидин				
0.6 мг/мл	10	57.0±3.8	5.6	<0.01

Таблиця 3

Вплив діоксидину на рівень показників плодючості дрозофіли (за кількістю імаго)

Концентрація (мг/мл)	Проан. культур дрозоф.	Кількість лялечок M±m	Значення	
			χ^2	P
Контроль				
-	10	79,0±4,1	-	-
Діоксидин				
0.6 мг/мл	10	48,3±3.0	6.1	<0.01

Отже, використання нового способу оцінки мутагенності хімічних чинників виявило чутливість, інформативність і надійність запропонованого способу оцінки.

Завдяки застосуванню запропонованого способу проведені експериментальні дослідження виявили мутагенну активність діоксидину. Встановлено, що вплив хімічних чинників (при обробці личинок) здатен чинити негативну дію на рівень адаптивних можливостей та мутагенезу у статевих клітинах еукаріотів - достовірно підвищуючи частоту домінантних летальних мутацій порівняно з контролем та знижуючи рівень плодючості за кількістю лялечок й імаго.

Таким чином, заявлено новий спосіб "визначення мутагенності хімічних чинників на *Drosophila melanogaster*" шляхом обробки личинок дрозофіли цими чинниками та аналізу їх нащадків на наявність індукованих летальних мутацій.

Спосіб відзначається підвищеною чутливістю, інформативністю, надійністю, зручністю, економічністю, достовірністю та експресністю.

Джерела інформації:

1. Белоконь Е.М. Методические указания к определению мутагенной активности химпрепаратов с помощью тестов на дрозофиле / Е.М. Белоконь. - Львов: ЛГУ, 1984. - 16 с.

2. Тихомирова М.М. Генетический анализ / М.М. Тихомирова. - Л.: Изд-воЛГУ, 1990. - 282 с.

5 3. Стрижельчик Н.Г., Воробйова Л.І. Методичні рекомендації для оцінки мутагенних властивостей хімічних речовин за допомогою короткострокових тестів на *Drosophila melanogaster* / Н.Г. Стрижельчик, Л.І. Воробйова. //ХНУ імені В.Н. Каразіна. - Харьков, 2012: ХНУ імені В.Н. Каразіна. - 30 с.

4. Лакин Г.Ф. Биометрия / Лакин Г.Ф. - М.: Наука, 1990. - С. 128.

10

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення мутагенності хімічних чинників на *Drosophila melanogaster*, що включає обробку мутагенними чинниками самців, їх схрещення з інтактними віргінними самками та подальший аналіз індукованих домінантних летальних мутацій у їхніх нащадків, який **відрізняється** тим, що мутагенними чинниками обробляють не дорослих самців імаго, а личинок.

15

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601