

to basic DNA of high molecular weight, two minicircular DNA of the size of 6.5 and 2.4 Kb.

Analysis of the results of analytical ultra centrifugation and electrophoregrams of the distribution of the products of segregation of DNA of the cell organelles using restriction enzyme *EcoRI* showed that the plasmid-like DNA has mitochondrial origin and that it does not contain significant impurities of nuclear and plastid DNA.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cloning vectors of mitochondrial origin for eukaryotes: a new concept in genetic engineering / K. Esser, U. Kück, U. Stahl, P. Tudzynski // *Curr. Genet.*—1983.—7.—P. 239—243.
2. Кларк М., Рудельхюбер Т., Шей Дж. Методы генетики соматических клеток.— М.: Мир, 1985.— Т. 1.— С. 238—246.
3. Глеба Ю. Ю., Сытник К. М. Снятие протопластов и генетическое конструирование высших растений.— Киев: Наук. думка, 1982.— 102 с.
4. Unique DNA associated with mitochondria in the «S»-type cytoplasm of male-sterile maize / D. R. Pring, C. S. Levings III, W. W. L. Hu, D. H. Timothy // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1977.—74, N 5.—P. 2904—2908.
5. Powling A. Species of small DNA molecules found in mitochondria from sugarbeet with and male-sterile cytoplasm // *Mol. and Gen. Genet.*—1981.—183, N 1.—P. 82—84.
6. Plasmid-like DNAs associated with mitochondria of cytoplasmic male-sterile sorghum / D. R. Pring, M. F. Conde, K. F. Schertz, C. S. Levings III // *Ibid.*—1982.—186, N 2.—P. 180—184.
7. Nikiiforova I. D., Negruk V. I. Comparative electrophoretical DNAs in *Vicia faba* and in some other legumes // *Planta.*—1983.—157, N 1.—P. 81—84.
8. Получение чистых препаратов ДНК из клеточных органов хлопчатника и некоторые данные об их структурной организации / Т. Ю. Юсупов, А. А. Ирисметов, Н. А. Рахматов, А. П. Ибрагимов // *Физиология и биохимия культур. растений.*—1985.—17, № 2.—С. 157—162.
9. Schildkraut C. L., Marmur J., Doty P. Determination of the base composition of deoxyribonucleic acid from its buoyant density in CsCl // *J. Mol. Biol.*—1962.—4, N 3.—P. 430.
10. Маннатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование.— М.: Мир, 1984.— 480 с.
11. Kleinschmidt A. K. Monolayer techniques in electron microscopy of nucleic acid molecules // *Meth. Enzymol.*—1968.—12b.—361 p.
12. Юсупов Т. Ю. Сравнительное исследование структурной организации ДНК хлоропластов некоторых видов хлопчатника: Дис. ... канд. биол. наук.— Ташкент, 1982.— 119 с.

Ин-т эксперим. биологии растений АН УзССР,
НПО «Биолог», Ташкент

Получено 03.07.91

УДК 575.113.1—575.155—577.113.083

Ю. В. Пацковский, В. В. Гайдук, О. В. Веселовский, Е. И. Зубко,
Т. П. Пастернак, Л. Н. Юркевич, С. Г. Машталер, А. И. Потопальский

ОБНАРУЖЕНИЕ rUC19-ГОМОЛОГИЧНЫХ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ГЕНОМЕ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Методом блот-гибридизации по Саузерну изучали наличие и организацию повторяющихся последовательностей, гомологичных ДНК плазмиды rUC19, в геноме некоторых видов высших растений семейства злаковых (рожь, кукуруза, пшеница) и пасленовых (паслен, табак, красавка, картофель). Часто повторяющиеся rUC-гомологичные последовательности обнаружены в составе ядерной ДНК ржи (две линии, полученные из сорта Житомирская), пшеницы (сорт Сибирская 18), паслена (одна линия из трех), красавки. rUC-повторы присутствуют в виде нескольких сотен или тысяч копий на геном в составе ДНК картофеля (сорт Зареве), томатов (сорт К-139), кукурузы (две линии сорта PLS-72). Показано, что rUC-гомологичные последовательности могут быть использованы в качестве маркера при анализе соматических гибридов красавка+табак. Найдены различия в числе и организации rUC-повторов в составе геномов разных поколений (F₂ и F₄) двух линий ржи. Предполагается, что внутри- и межвидовой полиморфизм числа или организации rUC-гомологичных последовательностей может быть обусловлен нестабильностью генома растений.

© Ю. В. ПАЦОВСКИЙ, В. В. ГАЙДУК, О. В. ВЕСЕЛОВСКИЙ, Е. И. ЗУБКО,
Т. П. ПАСТЕРНАК, Л. Н. ЮРКЕВИЧ, С. Г. МАШТАЛЕР, А. И. ПОТОПАЛЬСКИЙ, 1992

Введение. Число повторяющихся последовательностей в геноме растений очень велико и обычно составляет более 98 % всей геномной ядерной ДНК. Причем относительное количество повторов в геноме высших растений значительно (в 10 и более раз) превышает таковое у подавляющего большинства видов животных [1]. Роль и значение отдельных повторяющихся единиц генома, таких как генов рРНК, гистонов, тРНК, достаточно известны. Однако для основной массы повторов их роль и структура совершенно неясны. Вследствие этого повторяющиеся последовательности генома растений довольно интенсивно изучаются. Рядом исследователей были выделены и охарактеризованы как кластеризованные, так и диспергированные повторяющиеся элементы генома растений, например, табака, *Nicotiana tabacum* [2], томатов, *Lycopersicon esculentum* [3, 4], *Arabidopsis thaliana* [5], ржи, *Secale cereale* [5, 7], *Mbol*-повторы у пяти видов высших растений [8], повторяющиеся элементы сателлитной ДНК [9, 10]. Интерес исследователей обусловлен фактами обнаружения отличий числа, расположения либо величины гомологичных повторяющихся последовательностей в геномах отдельных видов и семейств растений. Такая вариабельность свидетельствует об особой роли повторов в составе генома и об определенной нестабильности последних. В пределах одного и того же вида растений вариации в числе и расположении повторяющихся единиц обычно не обнаруживаются, что является основанием для проведения так называемой «геномной дактилоскопии», в том числе с применением в качестве молекулярного зонда ДНК фага *M13* [11].

Проводя гибридизацию с различными ДНК-зондами, встроенными в ДНК плазмиды *pUC19*, мы обнаружили, что существует значительная вероятность наличия в геноме растений последовательностей, гомологичных плазмидной ДНК. Поскольку не исключена возможность использования таких последовательностей в качестве геномных маркеров при половой и соматической гибридизации, мы предприняли исследование по обнаружению *pUC*-гомологичных повторов в геноме некоторых видов высших растений.

Материалы и методы. Линии и сорта растений, использованные в работе. В экспериментах использованы:

- а) рожь, *S. cereale*, сорта Житомирская (линия С) и линии, полученные из данного сорта, — короткостебельная (линия В) и обладающая антоциановой пигментацией (линия А). — поколения F_2 и F_4 ;
- б) две линии (1 и 2) кукурузы, *Zea mays*, сорт PLS-72;
- в) пшеница, *Triticum aestivum*, сорта Сибирская 18 и Мироновская яровая;
- г) табак, *N. tabacum*, сорта Лехия и Самсун;
- д) паслен черный, *Solanum nigrum* sp. (линии 1—3);
- е) томаты, *L. esculentum*, сорт К-139;
- ж) картофель, *S. tuberosum*, сорт Зарево;
- з) культура ткани красавки, *Atropa belladonna*, 100-01 и соматического гибрида *A. belladonna* 100-01 + *N. tabacum* R100a (Rab 2-1).

Методика проведения работы с культурами указанных растений приведена в работе [12].

Выделение и рестрикционный анализ препаратов ДНК. Клеточные ядра получали из 10—15-дневных проростков растений, из листьев отдельных растений в процессе вегетации или из культуры клеток по описанному методу [13]. Для выделения ДНК клеточные ядра лизировали в буфере следующего состава — 100 мМ трис-НСI (рН 8), 10 мМ ЭДТА, 2 % DS-Na при 40 °С. Затем в лизат вносили 5 М NaCl до конечной концентрации 1 М и центрифугировали при 0 °С (8 000—12 000 g 20 мин). Супернатант осаждали двумя объемами изопропанола, а препарат ДНК собирали, промывали 70 %-ным раствором этанола, подсушивали на воздухе и растворяли в буфере TE (10 мМ трис-НСI, 1 мМ ЭДТА, рН 7,2). Затем препарат обрабатывали РНК-азой А (100 мкг/мл), предварительно прогретой при 90 °С в течение 10 мин. Примеси белка удаляли очисткой фенолом. После очистки

препарат пересаждали этанолом, промывали 70 %-ным этанолом, подсушивали и растворяли в буфере TE. Рестрикцию ДНК проводили, как указано в руководстве [14]. Использовали ферменты НПО «Биолар» (Вильнюс). Электрофорез ДНК проводили в 1 %-ной агарозе фирмы «Bio-Rad» (США) в буфере TAE×1 [14] в течение 16—20 ч при силе тока 12 мА и напряжении 2 В/см. На каждую дорожку наносили около 5—7 мкг рестрицированной ДНК. Полноту рестрикции растительной ДНК проверяли путем внесения в пробы ДНК фага лямбда либо в последующем гибридизацией полученного фильтра с зондом 7R. Последний содержит фрагмент гена 25S рДНК и предоставлен научным сотрудником Ин-та клеточ. биологии и генет. инженерии АН Украины Н. Н. Борисюком. После окончания электрофореза гели окрашивали водным (2 мг/л) раствором бромистого этидия и фотографировали в ультрафиолете.

Плазмидную ДНК получали из *E. coli JM109* по общепринятому методу [14]. Электрофорез обработанной рестриктазами плазмидной ДНК проводили в 6—8 %-ном полиакриламидном геле (ПААГ) в течение 1,5—2 ч в буфере TAE×1 при напряжении 10—12 В/см.

Блот-гибридизация ДНК. Перенос на фильтры Nubond N («Amersham», Англия) и ник-трансляцию ДНК осуществляли, как описано, используя стандартные растворы и ферменты фирмы «Amersham» [14]. Гибридизацию ДНК-ДНК вели по методике [15].

Результаты и обсуждение. Блот-гибридизационный анализ обнаружил наличие различных по частоте встречаемости и характеру организации рUC-гомологичных повторяющихся элементов в геноме растений. У нескольких видов растений, за исключением табака, обнаружены такие повторы. Анализ геномной ДНК линий ржи (поколение F₂) показал наличие рUC-гомологичных повторов с отличающейся организацией. Рестриктазы *EcoRI* и *EcoRV* вырезают из ядерной ДНК повторы длиной 3,0; 3,2; 5,8 и 7,2 тыс. п. н., причем у линии А мажорный класс повторов представлен последовательностями длиной 3,0 и 3,2 тыс. п. н., а в линии В — 5,8 и 7,2 тыс. п. н. (рис. 1, а, б). В то же время рестрикция *BamHI* обнаруживает наличие двух основных групп повторов у линий А и В — 3,0 и 3,2 тыс. п. н. у линии А и 3,0 и 5,8 тыс. п. н. у линии В. Не исключено, что небольшие различия в характере гидролиза повторов тремя рестриктазами обусловлены разной доступностью рестрикционных сайтов расщепления, что может быть связано, например, с метилированием ДНК. Косвенным подтверждением гомологии указанных последовательностей является характер гибридизации *MspI*-субповторов ДНК ржи, где различия не обнаруживаются (рис. 1, в). В ДНК паслена встречается более значительное число *MspI*-субповторов, гомологичных плазмидной ДНК (рис. 1, в, г). С другой стороны, рUC-гомологичные последовательности из разряда частых повторов обнаруживаются только в составе геномной ДНК одной из линий паслена *S. nigrum* и отсутствуют в составе двух других (рис. 1, в). Аналогичные данные получены при изучении геномной ДНК разных сортов пшеницы — только в составе одного из них были найдены частые рUC-гомологичные последовательности ДНК (рис. 1, д). По данным дот- и блот-гибридизации в присутствии известных концентраций плазмидной ДНК установлено, что рUC-гомологичные повторяющиеся последовательности присутствуют либо в виде частых повторов (около 0,5—1 млн копий на геном, или 0,5—2 % всей ДНК), как это наблюдается у двух линий ржи (F₂), у одного сорта пшеницы, у одной линии паслена, у красавки, либо в виде средних повторов (несколько сотен или тысяч копий на геном), например, у кукурузы, картофеля, томатов и ржи (F₄).

У одних и тех же линий ржи, но взятых во втором (F₂) и четвертом (F₄) поколениях, выявлены различия в числе и организации рUC-повторов (см. рис. 1, а, в, е). Анализ растений в F₄ показал наличие в составе геномной ДНК линий А, В и С, а также в составе ДНК двух линий кукурузы рUC-гомологичной последовательности размером

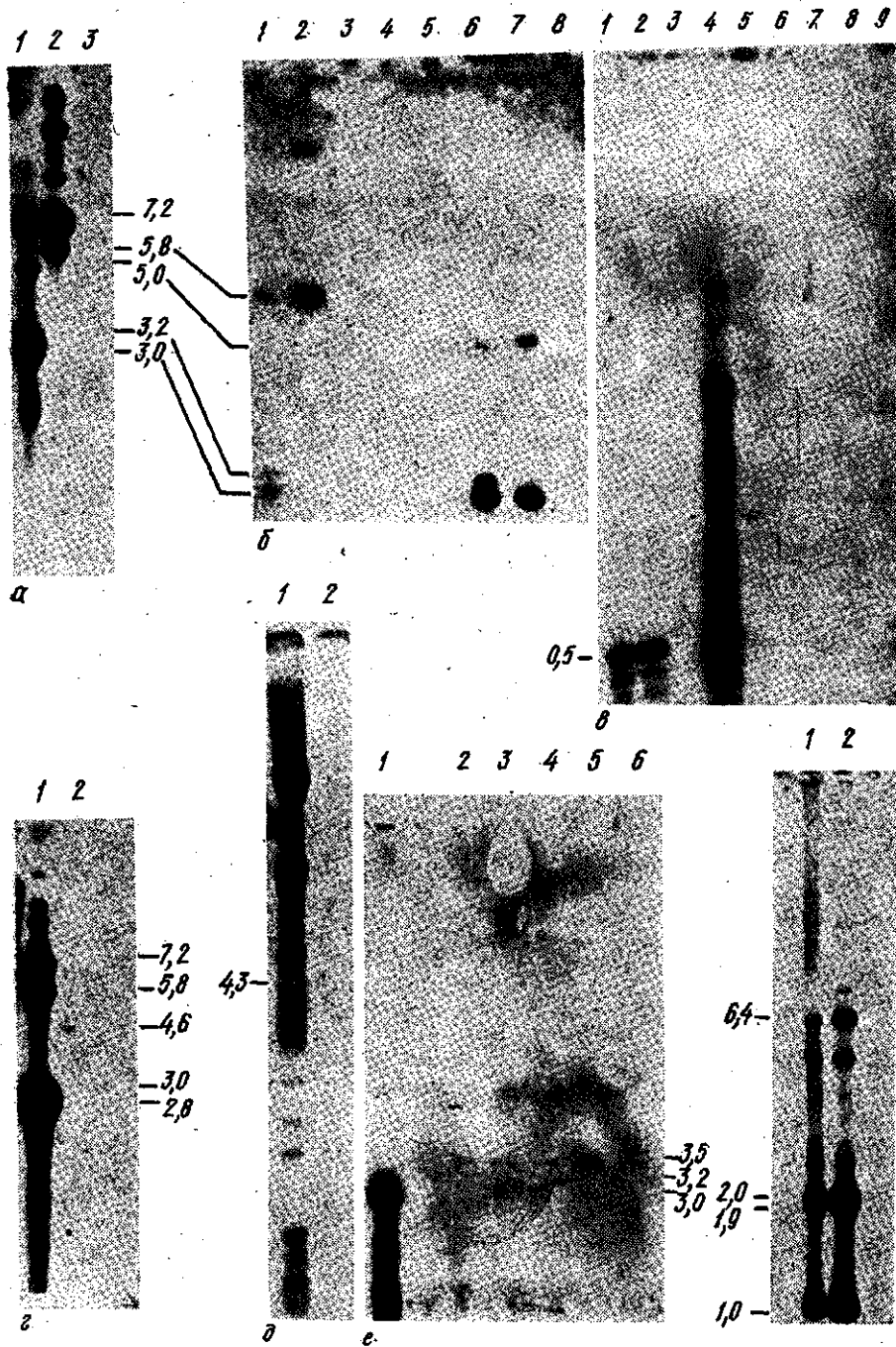
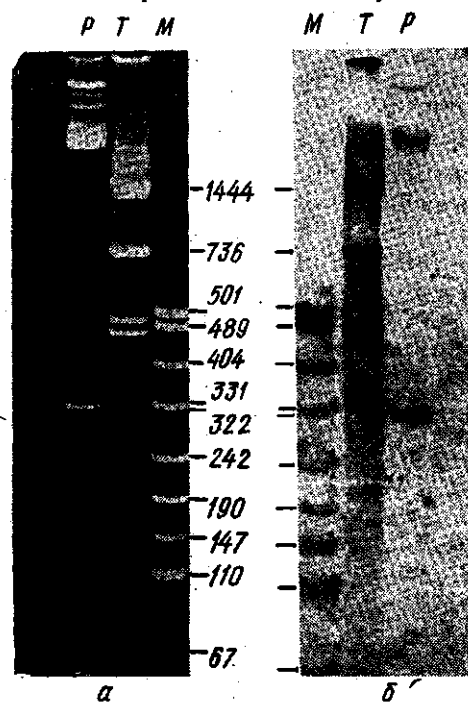


Рис. 1. Блот-гибридизация по Саузерну препаратов растительной ДНК с ^{32}P -меченой ДНК плазмиды *rUC19*: а — рестрикция *EcoRI* (ДНК ржи: 1 — линия А, 2 — линия В, 3 — линия С, все F_2); б — рестрикция *EcoRI* (1–3) и *BamHI* (4–8) (ДНК ржи: 1, 6 — линия А, 2, 7 — линия В, 3, 8 — линия С, все F_2 ; ДНК табака: 4 — сорт Лехия, 5 — сорт Самсун); в — рестрикция *MspI* (ДНК ржи: 1 — линия А, 2 — линия В, 3 — линия С, все F_2 ; ДНК паслена: 4 — линия 1, 6 — линия 2, 7 — линия 3; 5 — ДНК картофеля, 8, 9 — ДНК томата); г — рестрикция *EcoRI*: 1 — ДНК паслена (линия 1), 2 — ДНК томата К-139; д — рестрикция *HindIII*: пшеница, 1 — сорт Сибирская 18, 2 — сорт Мироновская яровая; е — рестрикция *BamHI* (ДНК ржи: 1 — линия В, F_2 ; 2 — линия С, 3 — линия В, 4 — линия А, все F_4 ; ДНК кукурузы: 5 — линия 1, 6 — линия 2); ж — рестрикция *EcoRI* ДНК красавки (1) и гибрида красавка+табак Rab2-1 (2). Отмечены размеры фрагментов ДНК (в тыс. п. н.)

около 3,5 тыс. п. н. (рис. 1, е). При этом фенотипические различия между одними и теми же линиями в F_2 и в F_4 отсутствуют. Кроме того, по данным цитологического анализа, изученные линии ржи имеют одинаковый хромосомный набор — 14. Число таких повторов в геноме линий А, В и С в F_4 примерно одинаково и составляет, вероятно, не более нескольких сотен копий на геном, что значительно ниже числа копий *pUC*-гомологичных последовательностей у линий А и В в F_2 . Кроме того, организация выявленных повторов у одних и тех же линий в F_2 и F_4 отличается. Исходя из полученных данных можно высказать по крайней мере два предположения. Либо различия в числе и организации повторяющихся элементов отражают уровень видового полиморфизма, либо изменение числа повторов связано с их амплификацией и в последующем с их потерей. В любом случае очевидно, что данные последовательности не имеют прямого отношения к фенотипу растений, так как он не изменился. Помимо того, в результате генетического анализа было обнаружено, что признак антоциановой пигментации у линии А ржи наследуется как моногенный доминантный признак. В пользу гипотезы об амплификации повторов свидетельствует тот факт, что линия А возникла из линии В с частотой 0,02 %. Это делает маловероятным объяснение наблюдаемого сходства линий А и В в числе и организации *pUC*-гомологичных повторов исходя из предположения о полиморфизме.

Частые повторы, гомологичные ДНК *pUC19*, обнаружены в составе генома красавки *A. belladonna* 100-01. Подтверждением кластерированности данных повторов является то обстоятельство, что характер их рестрикции при гидролизе ферментами *EcoRI*, *BamHI* и *HindIII* одинаков. Ин-

Рис. 2. Электрофорез (а) и блот-гибридизация (б) ДНК плазмиды *pUC19* с ^{32}P -меченой ДНК красавки: Р — рестрикция *PvuII*, Т — *TaqI*, М — *MspI*. Отмечены размеры фрагментов ДНК (в п. н.)



терес вызвало то, что соматический гибрид красавка + табак, содержащий всего одну или две хромосомы красавки на геном, дал аналогичную картину гибридизации с ДНК *pUC19* (рис. 1, ж). Это свидетельствует о том, что данные повторы расположены кластерами, а их копияность (не менее 1 % генома) предполагает, что 1 из 72 хромосом красавки практически полностью состоит из *pUC*-гомологичных последовательностей. Какова роль таких повторов в геноме — неясно, однако такое свойство можно использовать при соматической гибридизации и установлении гибридной природы растений, особенно с учетом того, что частые *pUC*-гомологичные повторы в составе геномной ДНК табака не обнаружены. Видимый рестриктный полиморфизм *pUC*-гомологичных повторов красавки объясняется, вероятно, полиморфизмом первичной структуры ДНК плазмиды, которая не содержит внутренних гомологичных участков достаточной длины. Об этом свидетельствует тот факт, что гибридизация радиоактивно меченой ДНК красавки с рестрицированной ДНК плазмиды показывает наличие в геноме растения последовательностей, гомологичных практически всем

фрагментам плазмидной ДНК (рис. 2). Возможно, что каждому типу повторов может соответствовать определенная последовательность в составе ДНК *pUC19*.

Таким образом, в геноме некоторых видов высших растений обнаруживаются повторы, гомологичные ДНК плазмиды *pUC19*. Характер их организации и копийность отличаются у разных видов растений, что, очевидно, может быть основанием для выявления межгеномных различий или сходства. Эти повторы, вероятно, кластерированы. Их полиморфизм может определяться числом и расположением гомологичных и негомологичных участков при условии, что последние гибридизуются с разными последовательностями плазмидной ДНК. Изменение числа *pUC*-гомологичных повторов в геноме ржи, пшеницы и паслена, по-видимому, является проявлением нестабильности генома.

Резюме. За допомогою методу блот-гібридизації по Саузерну у складі ядерної ДНК кількох видів вищих рослин (*Secale cereale*, *Zea mays*, *Triticum aestivum*, *Solanum nigrum*, *S. tuberosum*, *Atropa belladonna*, *Lycopersicon esculentum*) виявлено послідовності, що повторюються, гомологічні ДНК плазмиди *pUC19*. У складі геномної ДНК жита і красавки вони розміщені у вигляді кластерів. Встановлено розбіжності в числі та організації *pUC*-повторів в геномах різних видів і окремих ліній (поколінь — у жита) одного виду. Показано можливість використання *pUC*-повторів як маркерів при соматичній гібридизації красавки та тютюну. Обговорюється можливий зв'язок виявлений фактів з нестабільністю генома рослин.

Summary. With Southern blot hybridization into a nuclear DNA of the several species of higher plants (*Secale cereale*, *Zea mays*, *Triticum aestivum*, *Solanum nigrum*, *S. tuberosum*, *Atropa belladonna*, *Lycopersicon esculentum*) the *pUC19*-homologous repeated DNA sequences are detected. In the genomic DNA of *S. cereale* and *A. belladonna* its are clustered. The difference to the *pUC*-repeats organization and to their copies number between several species and several lines (or generations — *S. cereale*) of each species is shown. The possibility of using of the *pUC*-homologous sequences as a marker for somatic hybridization is demonstrated. The possible correlation of the showed facts with plant genome instability is discussed.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ильин Ю. В. Повторяющиеся гены эукариот // Молекуляр. биология. — 1986. — 16, № 1. — С. 229—257.
2. A BamHI family of highly repeated DNA sequences of *Nicotiana tabacum* / B. Kaulova, J. Reich, R. Matyasek et al. // Theor. and Appl. Genet. — 1989. — 78, N 1. — P. 77—80.
3. Ganai M. V., Lapitan N. L., Tanksley S. D. A molecular and cytogenetical survey of major repeated DNA sequences in tomato (*Lycopersicon esculentum*) // Mol. and Gen. Genet. — 1988. — 213, N 2/3. — P. 262—268.
4. Zamir D., Tanksley S. D. Tomato genome is compared largely of fast evolving low copy number sequences // Ibid. — P. 254—261.
5. Characterization of highly repetitive sequences of *Arabidopsis thaliana* / C. R. Simons, I. Gielen, M. V. Montagu, D. Inze // Nucl. Acids Res. — 1988. — 16, N 14B. — P. 6753—6766.
6. Jones J., Flavell R. The mapping of highly repeated DNA families and their relationship to C-bands in chromosomes of *Secale cereale* // Chromosoma. — 1982. — 86, N 2. — P. 595—612.
7. Appels R., Moran L. B., Gustavson J. P. The structure of DNA from the rye (*Secale cereale*) NORRI locus and its behavior in wheat backgrounds // Can. J. Genet. and Cytol. — 1986. — 28, N 2. — P. 673—685.
8. Ranade S. A., Lagu M. D. Identification of A dispersed MBO 1 repeat family in five higher plant genome // Biosci. Repts. — 1988. — 8, N 5. — P. 435—441.
9. Deumling B. Sequence arrangement of a highly methylated satellite DNA of a plant *Scilla*: a tandemly repeated inverted repeat // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1981. — 78, N 1. — P. 338—342.
10. Kato A., Yakura K., Tanifuji S. Sequence analysis of *Vicia faba* repeated DNA, the *Fok I* repeat element // Nucl. Acids Res. — 1984. — 12, N 16. — P. 6415—6426.
11. Zimmerman P. A., Lang-Unnasch N., Cullis C. A. Polymorphic regions in plant genomes detected by an M13 probe // Genome. — 1989. — 32, N 5. — P. 824—828.
12. Зубко М. К., Зубко Е. И., Капранов Ф. В. Индукция хлорофиллдефектных мутантов табака — маркеров для клеточной инженерии // Биополимеры и клетка. — 1991. — 7, № 4. — С. 72—79.

13. Vlazak J. Effect of different desintegration techniques and media on yield appearance of isolation nuclei // Biol. plant.—1981.—23, N 6.—P. 406—413.
14. Маниатис Т., Фрич Э., Самбрук Дж. Молекулярное клонирование.—М.: Мир, 1984.—479 с.
15. Improved hybridization conditions for DNA «fingerprints» probed with *M13*/D. F. Westneat, W. A. Noon, H. K. Reeve, C. F. Aquadro // Nucl. Acids Res.—1988.—16, N 9.—P. 4161.

Ин-т молекуляр. биологии и генетики АН Украины, Киев
Ин-т клеточ. биологии и генет. инженерии АН Украины, Киев

Получено 30.07.91

УДК 578.52

А. И. Николаев, Т. Т. Чкония,
К. А. Эристави-Кафиани, В. З. Тарантул

АНАЛИЗ «СПАСЕННОЙ» ПЛАЗМИДЫ ИЗ ТРАНСГЕННОГО ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА

С помощью оригинальной методики микроинъекций ДНК в грену тутового шелкопряда получены трансгенные особи. Из суммарной ДНК F_2 -потомков этих животных «спасена» плазмида (p γ a), которая отличалась по своей структуре от переносимой плазмиды p1.5LTR и наследовалась внехромосомно. В составе плазмиды p γ a обнаружены повторяющиеся последовательности ДНК тутового шелкопряда, которые эволюционно консервативны.

Введение. При трансгенезе у животных экзогенная ДНК чаще всего интегрирует с ядерным геномом [1, 2], хотя может существовать и в экстрахромосомной форме [3, 4]. На модели тутового шелкопряда ранее впервые было показано, что при переносе плазмид путем микроинъекций в грену они как в первом поколении взрослых насекомых (F_0), так и в последующих (F_1 и F_2) присутствуют главным образом вне хромосомной ДНК [5, 6]. Для исследования механизма переноса и экстрахромосомного наследования трансгена было осуществлено его клонирование с помощью метода «спасения» плазмиды [3]. В настоящем сообщении приводятся данные по молекулярному анализу одной из «спасенных» рекомбинантных плазмид, полученной при трансформации клеток *Escherichia coli* ДНК из F_2 -поколения трансгенного тутового шелкопряда.

Материалы и методы. В грену тутового шелкопряда с помощью оригинальной методики микроинъекций [6, 7] переносили рекомбинантную плазмиду p1.5LTR, содержащую *Bam*HI/*Eco*RI-фрагмент плазмиды pBR322 (3,9 тыс. п. н.) и полтора длинных концевых повтора (LTR) вируса саркомы Рауса (RSV) [8]. Скрещивание бабочек, выделение ДНК и блот-гибридизацию проводили, как описано ранее [7].

Результаты и обсуждение. С помощью блот-гибридизации суммарной нерестрицированной ДНК из трансгенного шелкопряда № 4 с меченой плазмидой p1.5LTR установили, что у этого насекомого (самец) содержится несколько различающихся по размерам экстрахромосомных ДНК, имеющих гомологию с p1.5LTR (рис. 1, дорожка 4). С ДНК всех трансгенных F_2 -потомков этого насекомого картина блот-гибридизации была одинаковая (рис. 1, дорожки 1—3), но отличалась от той, которая имела место у родительской особи. Таким образом, трансген присутствует как в F_0 , так и в F_2 -поколениях насекомых в экстрахромосомной форме, структура которой перестраивается в процессе передачи по наследству [6].

Суммарную ДНК, выделенную из бабочек F_2 -поколения (№№ 8а, 16а и 16б), без рестрикции использовали для трансформации компетентных клеток *E. coli* (штамм JM101) [9]. В результате получили

© А. И. НИКОЛАЕВ, Т. Т. ЧКОНИЯ, К. А. ЭРИСТАВИ-КАФИАНИ, В. З. ТАРАНТУЛ, 1992