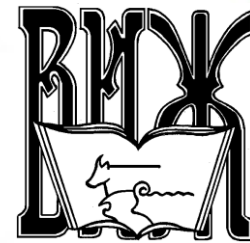




ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ГЕНЕТИКИ И РАЗВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ
филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л.
К. Эрнста»



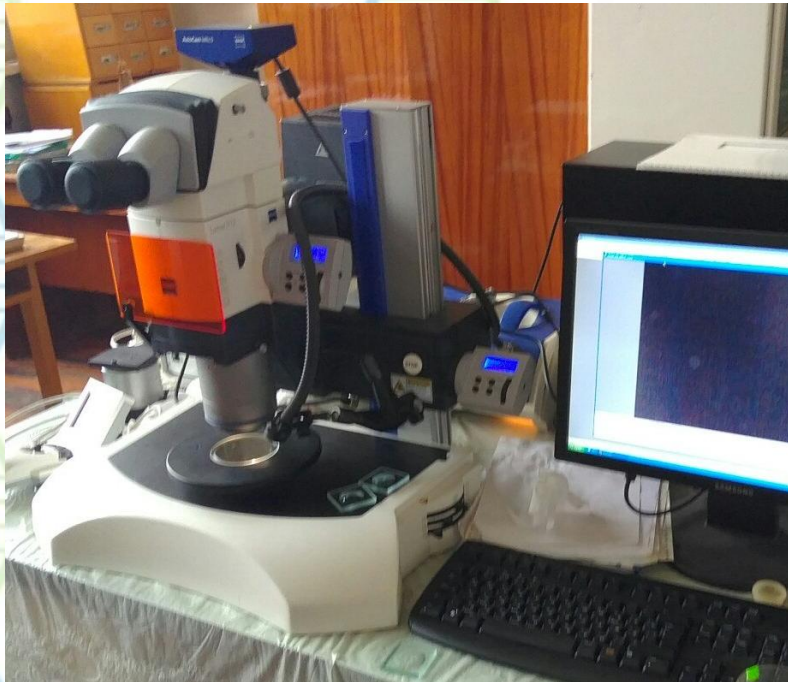
Полтева Е.А., Козикова Л.В.

Динамика экспрессии репортёрного гена на ранних этапах развития *Danio rerio*

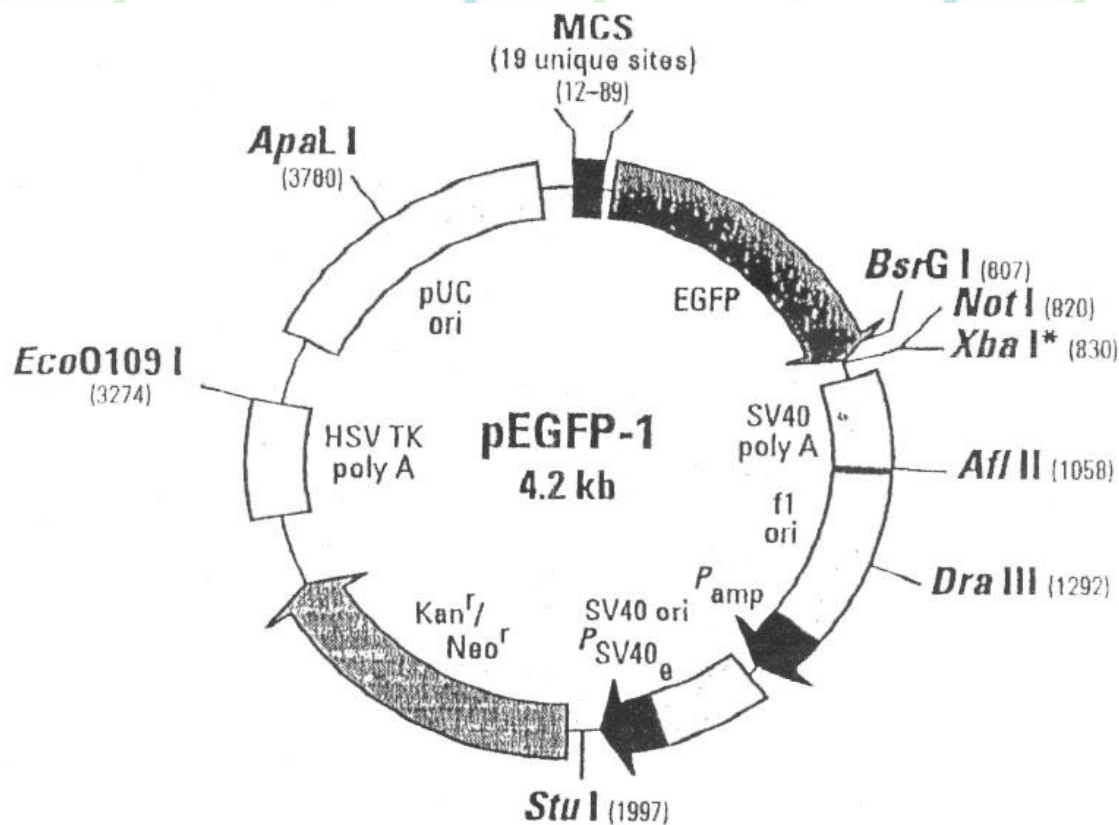
Цель данного исследования: изучить экспрессию репортёрного гена на ранних этапах развития модельного организма (*Danio rerio*)

Задачи:

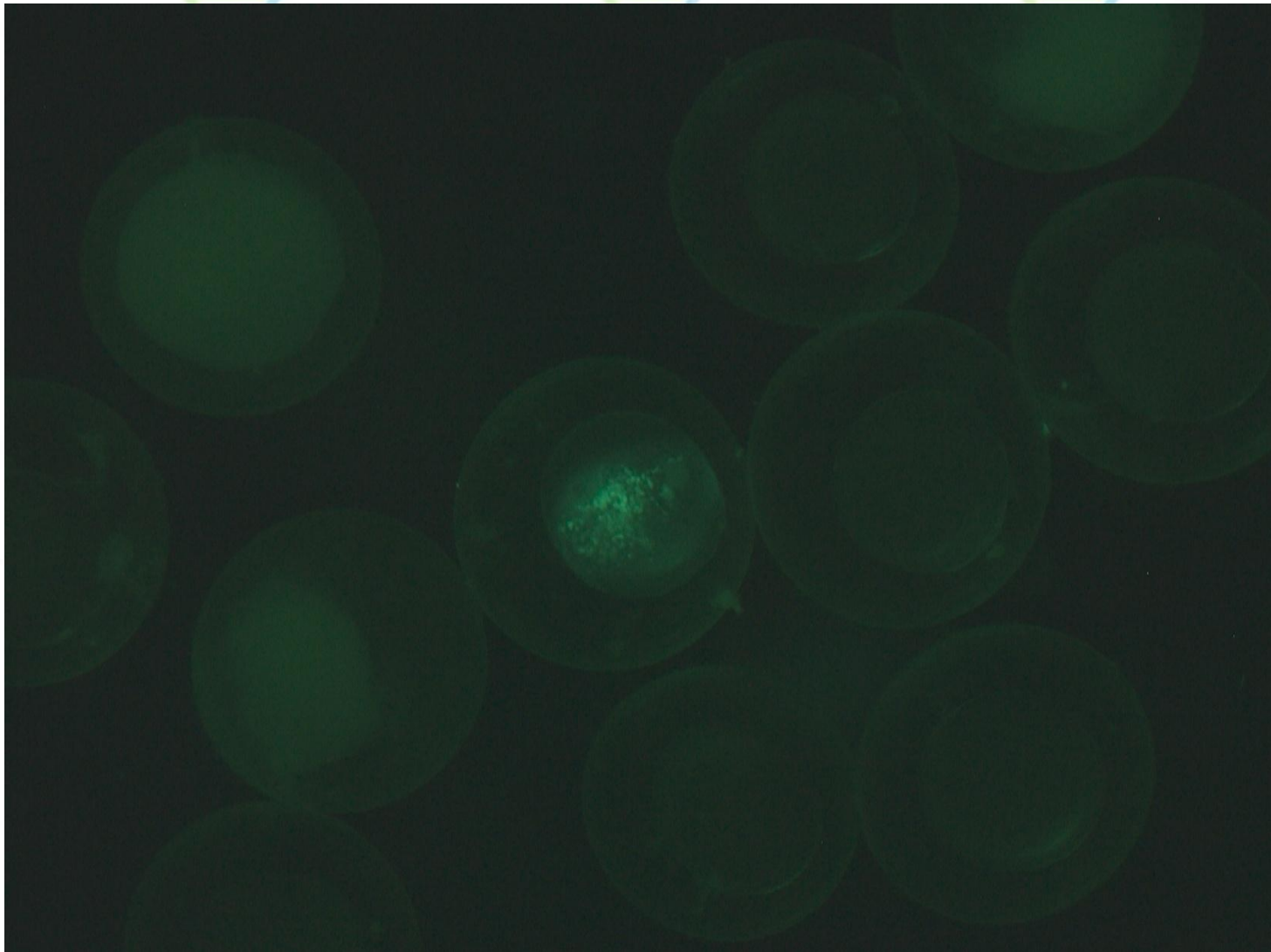
- Получить эмбрионы данио рерио;
- Провести процедуру трансгенеза;
- Отследить динамику экспрессии репортёрного гена у полученных особей.



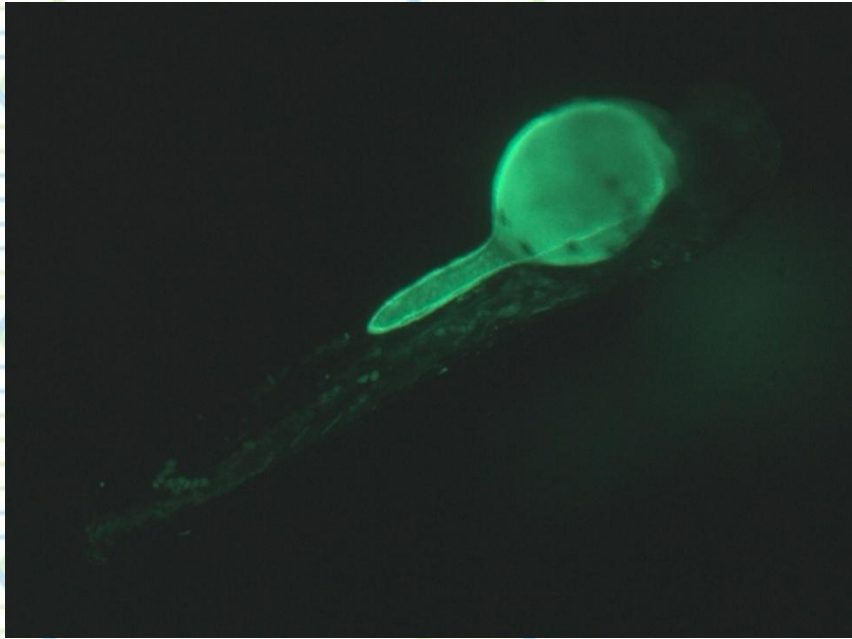
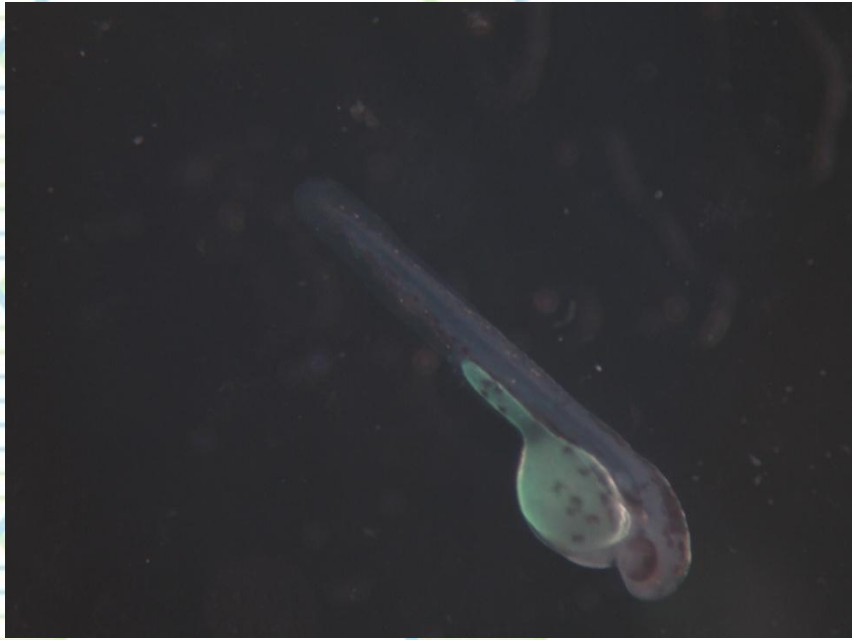
Самок и самцов (в отношении 2:1) помещали в нерестовый аквариум при температуре 29⁰С для получения икры. На стадии зиготы в эмбрионы была введена генетическая конструкция *pCEEGFP* методом микроинъекции под бластодиск. Анализ экспрессии *GFP* гена проводили при помощи флуоресцентного стереомикроскопа Lumar V12 Stereo (Zeiss) и фильтра ФИТЦ. Наблюдения проводились в возрасте 1, 2, 5, 7 и 14 суток.



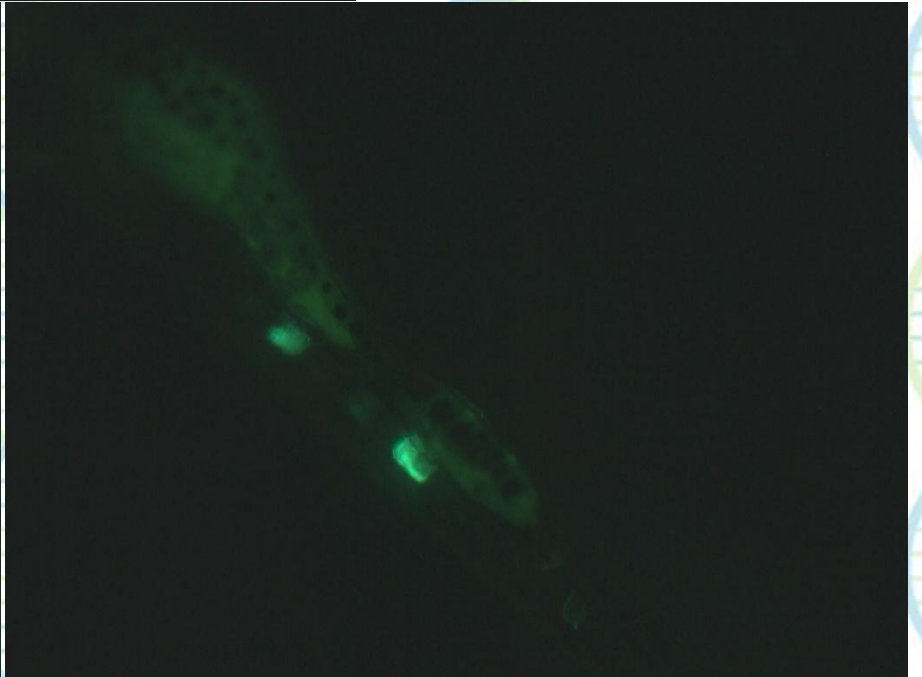
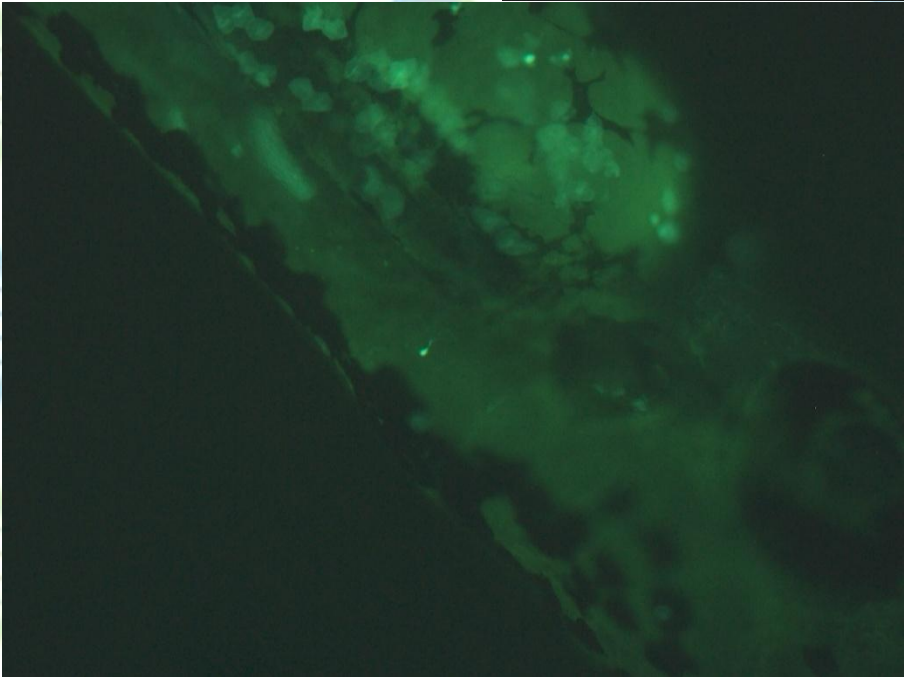
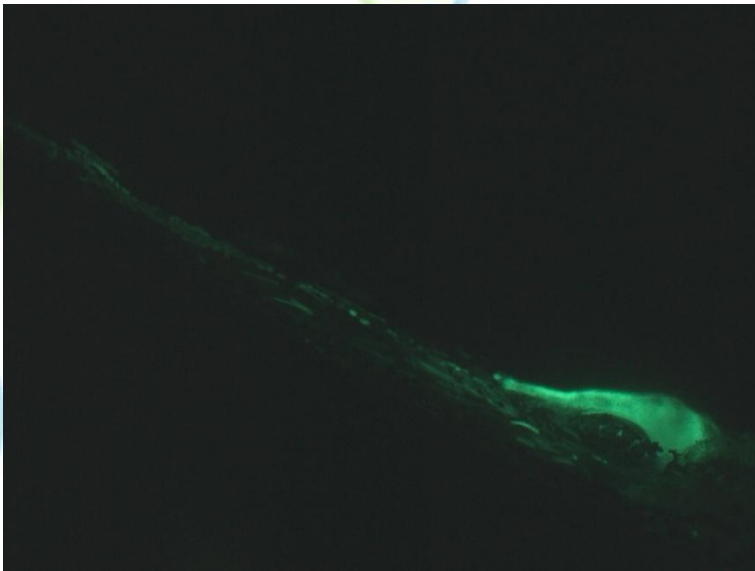
Плазмида *pCEEGFP* содержит репортёрный ген *GFP* под контролем промотора фактора элонгации человека. Для усиления экспрессии в генетическую конструкцию включен энхансер цитомегаловируса человека.

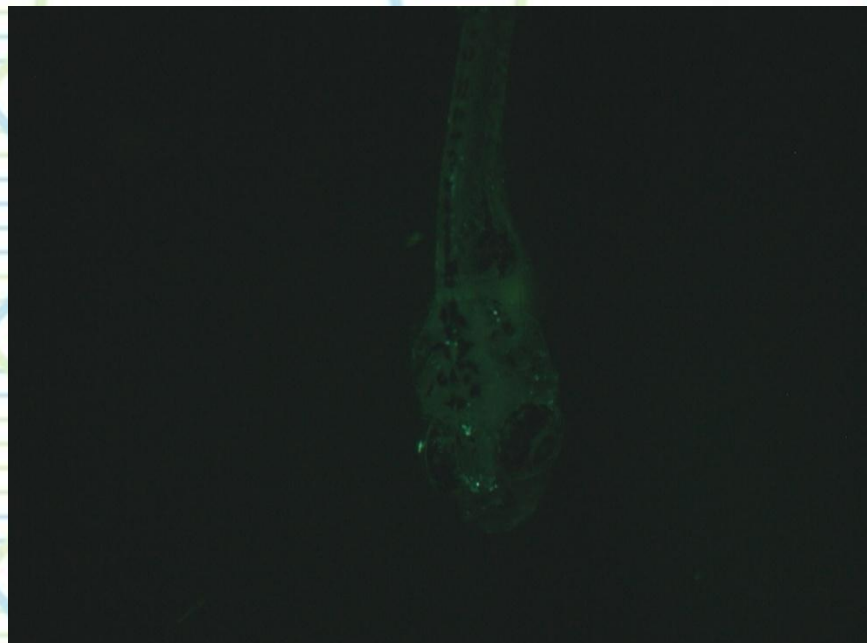
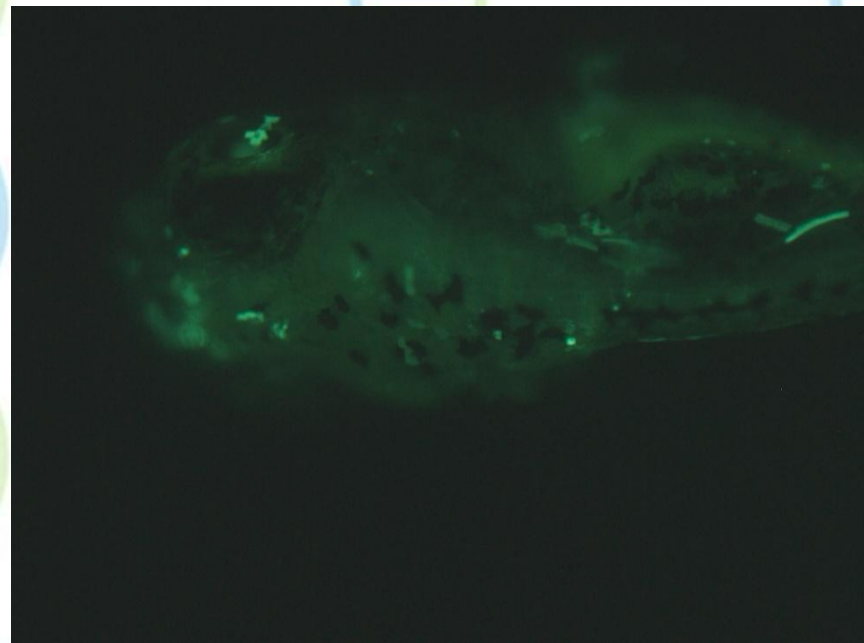
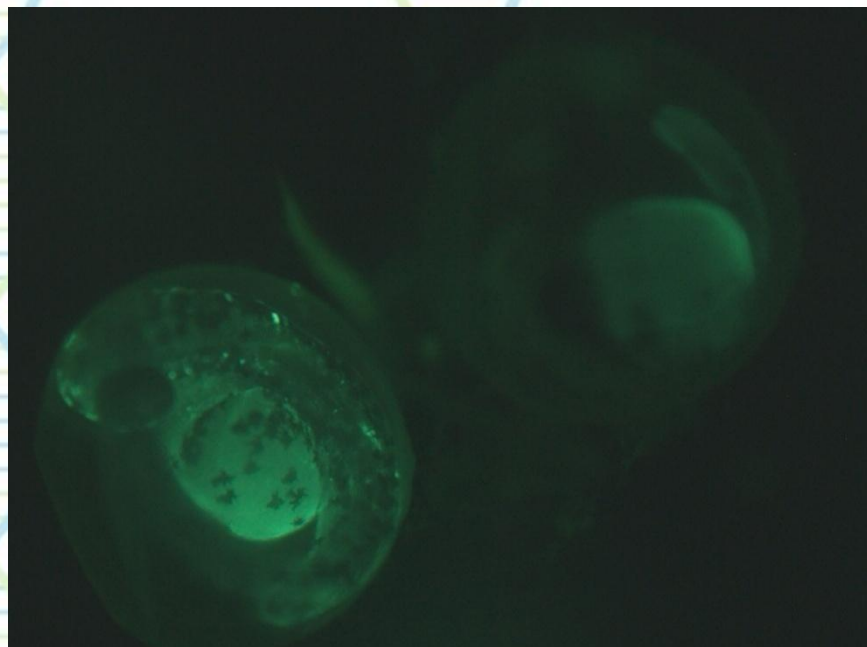
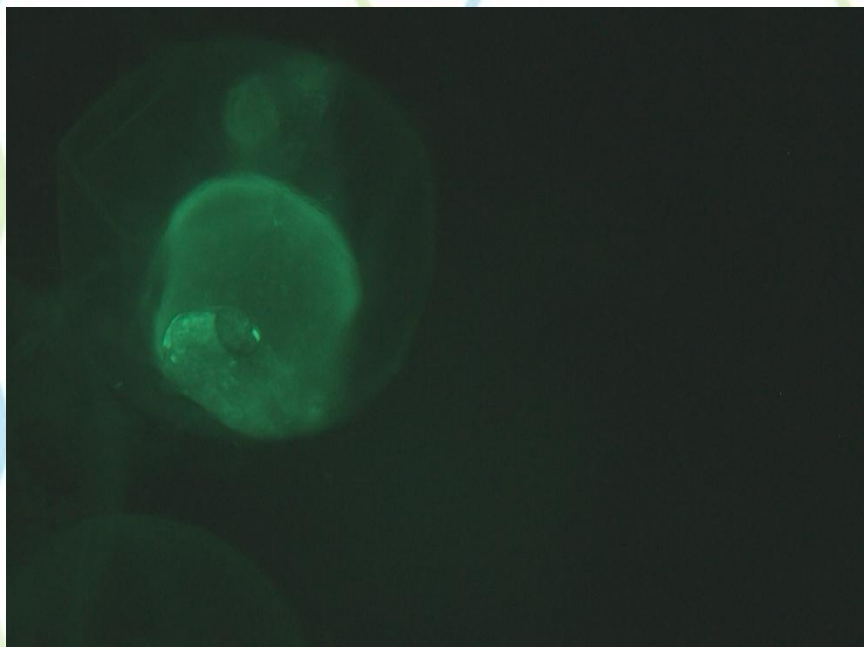


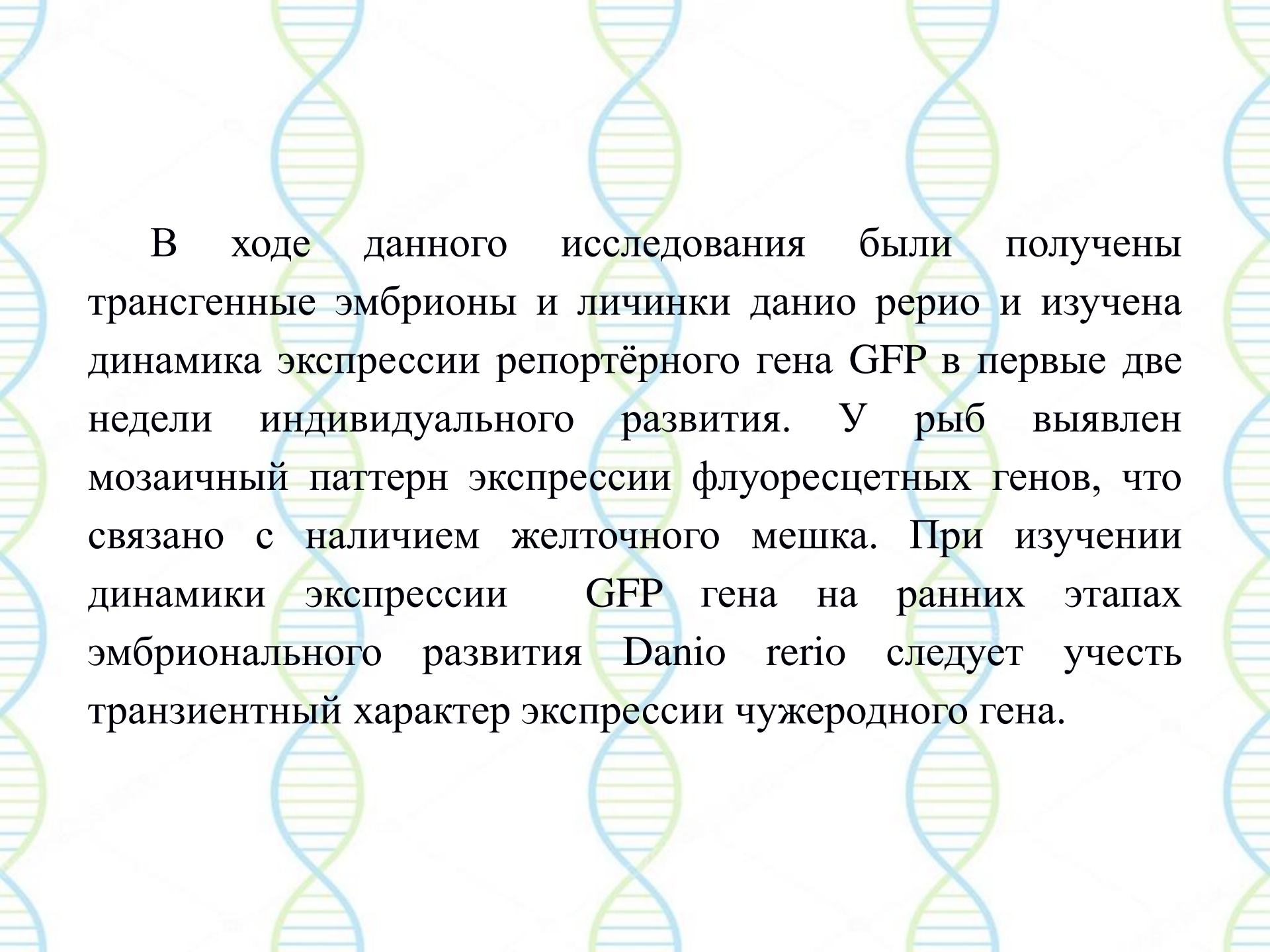
У всех полученных трансгенных эмбрионов и мальков наблюдалась мозаичная форма экспрессии флуоресцентного гена. Самые ранние признаки экспрессии регистрировались у эмбрионов на стадии 50%-ной эпиболии.



Через сутки после оплодотворения экспрессия *GFP* гена наиболее интенсивно выражена в области желточного мешка. После 48 часов развития начинается активное выклевание эмбрионов из оболочки, что позволяет детально видеть морфологию. Именно на этой стадии хорошо выражен мозаицизм экспрессии *GFP* гена. На пятые сутки основные точки локализации находятся в районе органов пищеварительной системы. Также у различных особей была отмечена флуоресценция в клетках мышц, покровных тканей и костях скелета. У большинства эмбрионов и мальков наблюдалась транзистная форма экспрессии, выраженная в том, что у части *GFP* клеток пропадал флуоресцентный сигнал.







В ходе данного исследования были получены трансгенные эмбрионы и личинки данио рерио и изучена динамика экспрессии репортёрного гена GFP в первые две недели индивидуального развития. У рыб выявлен мозаичный паттерн экспрессии флуоресцентных генов, что связано с наличием желточного мешка. При изучении динамики экспрессии GFP гена на ранних этапах эмбрионального развития *Danio rerio* следует учесть транзистный характер экспрессии чужеродного гена.



Спасибо за внимание!