

УДК 575.16:591.3

АНАЛИЗ ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ КЛЕТОЧНЫХ КЛОНОВ У ХИМЕРНЫХ МЫШЕЙ C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c¹

© 1999 г. Д. А. Исаев, О. В. Миронова, Е. С. Платонов, Б. В. Конюхов

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

117809 Москва В-333, ул. Губкина, д. 3

Поступила в редакцию 18.06.98 г.
Окончательный вариант получен 23.07.98 г.

Изучено распределение партеногенетических клеточных клонов в ретинальном пигментном эпителии и сосудистой оболочке глаз на серийных гистологических срезах, а также в головном мозгу, почках и печени путем электрофоретического анализа изоферментов глюкозофосфатизомеразы у 12 полученных ранее 6-месячных химерных мышей C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c. Так же, как и в установленном ранее распределении партеногенетических клонов эпидермальных меланобластов, отмечена асимметрия в распределении партеногенетических клеточных клонов в указанных структурах глаза. Выявлена высокая корреляция по соотношению партеногенетических и нормальных клеток в ретинальном пигментном эпителии правого или левого глаза и эпидермальных меланобластов в шерстном покрове соответствующей половины тела химеры. Эти данные указывают на то, что существует определенная взаимосвязь между процессами, приводящими к характерному распределению эктодермальных партеногенетических клонов в ретинальном пигментном эпителии правого и левого глаза и эпидермальных меланобластов у партеногенетических химер. Электрофоретический анализ изоферментов глюкозофосфатизомеразы не выявил ни у одной из 12 химер присутствия партеногенетического компонента в печени и почках и только у двух химер, у которых был отмечен высокий процент партеногенетических клеток эктодермального происхождения, был обнаружен партеногенетический компонент в головном мозгу. В этих случаях также отмечена асимметрия в правой и левой половинах головного мозга, как в ретинальном пигментном эпителии правого и левого глаза. Полученные данные показывают, что в течение развития химер происходит интенсивная элиминация партеногенетических клеток C57BL/6 в тканях эндодермального и мезодермального происхождения. У взрослых химер C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c сохраняются преимущественно партеногенетические клеточные клоны эктодермального происхождения.

Ключевые слова: химерные мыши, партеногенез, клональный анализ.

Организмы, состоящие из двух и более генотипически различных клеточных популяций, в экспериментальной биологии называют химерами (McLaren, 1976). Экспериментальные химеры, получаемые главным образом путем агрегации ранних зародышей мышей, широко используются для решения проблем генетики развития и клонального анализа онтогенеза (Конюхов и др., 1988; Конюхов, 1989). Химерных мышей, состоящих из нормальных и партеногенетических клеток, называют партеногенетическими химерами. Диплоидные партеногенетические эмбрионы обычно гибнут вскоре после имплантации, но партеногенетические химеры способны развиваться до рождения и половой зрелости. Партеногенетические клетки участвуют в формиро-

вании многих тканей и органов, в том числе и гонад, продуцируя полноценные гаметы (Surani et al., 1977). Однако даже в составе химерного организма партеногенетические клетки проявляют ограниченные потенции к развитию (Surani et al., 1987, 1988), что связывают с эффектами геномного импринтинга в развитии млекопитающих, т.е. с дифференциальной активностью аллельных генов материнского и отцовского происхождения. Для нормального развития млекопитающих необходимо наличие обоих геномов: как материнского, так и отцовского (Surani et al., 1990, 1993).

В соматических клетках млекопитающих транскрипционная активность некоторых генных локусов характеризуется аллельной специфичностью, обусловленной импринтированием материнского или отцовского аллеля. Импринтированные гены составляют примерно 0.1% генома млекопитающих, что ограничивает экспрессию примерно 100 генов на различных стадиях онто-

¹ Работа частично финансировалась Государственной научно-технической программой "Приоритетные направления генетики".

генеза (Barlow, 1997). Важнейшим следствием геномного импринтинга является тот факт, что среди 4000 видов млекопитающих не известно ни одного вида, размножающегося партеногенетически.

Развитие того или иного типа ткани или структуры организма млекопитающих требует своевременной экспрессии соответствующих генов отцовского происхождения (Cattanach, Kirk, 1985; Surani et al., 1987, 1990). Отсутствие экспрессии аллелей таких генных локусов в хромосомах материнского происхождения, обусловленное геномным импринтингом, приводит к последовательной полной или частичной элиминации партеногенетических клеток в организме химер в процессе эмбрионального развития. На основании данных по распределению партеногенетических клеток в различных тканях и органах химер было установлено, что в первую очередь происходит элиминация партеногенетических клеток во внезародышевых оболочках еще до начала органогенеза (Nagy et al., 1987; Clarke et al., 1988). Затем этот процесс элиминации партеногенетических клеток продолжается у зародыша в тканях мезодермального и энтодермального происхождения (Nagy et al., 1989; Fundele et al., 1989, 1990). В то же время в эктодермальных тканях гибель партеногенетических клеток протекает не столь интенсивно, в результате чего даже у взрослых химер присутствие партеногенетических клеток в таких тканях довольно значительно (Paldi et al., 1989; Nagy et al., 1989). Наибольший и постоянный вклад партеногенетических клеточных клонов (ПГКК) отмечен в таких тканях и органах, как головной мозг, шерстный покров и сердце. Меньший и нерегулярный вклад ПГКК наблюдается в яичниках, семенниках, матке, легких, почках, селезенке и желудке. Партеногенетические клетки обычно полностью отсутствуют в скелетной мускулатуре, часто отсутствуют или представлены в незначительном количестве в печени, надпочечниках, крови, мочевом пузыре и в слюнных железах (Nagy et al., 1989; Fundele et al., 1990).

Динамика процесса элиминации партеногенетических клеток в течение развития в целом сходна у химер, получаемых с использованием различных линий мышей и их гибридов в качестве партеногенетического компонента (Fundele et al., 1991). Однако эксперименты с трансгенами показали, что активность некоторых из них может зависеть от влияния линейноспецифичных геном-модификаторов (Sapienza et al., 1987; Allen et al., 1990; Surani et al., 1990). Кроме того, установлено, что диплоидные партеногенетические эмбрионы мышей разных инбредных линий имеют разные потенции к развитию (Пенков, Платонов, 1992; Penkov et al., 1996). Эти данные позволяют предположить, что элиминация партеногенетических клеток различного генотипа может происходить

с разной интенсивностью и тканевой специфичностью.

Целью настоящей работы явилось изучение потенций к развитию разных партеногенетических клеточных клонов генотипа C57BL/6 в составе химерного организма.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Анализ распределения партеногенетических клеточных клонов в ретинальном пигментном эпителии (РПЭ) и сосудистой оболочке (СО) глаза, а также в головном мозгу, печени и почках был проведен у 12 партеногенетических химер C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c, полученных ранее с использованием контрастных по пигментации и изоферментам глюкозофосфатизомеразы (ГФИ) линий мышей C57BL/6(C/C, *Gpi-1^{bb}*) и BALB/c(c/c, *Gpi-1^{aa}*). Химерных животных забивали в возрасте 6 мес путем смещения шейных позвонков. Методика получения химер приведена в предыдущей работе (Исаев и др., 1997).

Распределение ПГКК в ретинальном пигментном эпителии и сосудистой оболочке глаз партеногенетических химер C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c изучали на серийных гистологических парафиновых срезах по описанной ранее методике (Куприянов, Конюхов, 1984; Малинина, Марчук, 1991). Хрусталик удаляли перед заключением глаза в парафин. Сагиттальные срезы через глаз толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. Процент присутствия партеногенетических клонов в РПЭ и СО определяли путем расчета соотношения измеренных курвиметром длин пигментированных участков к общей длине соответствующей структуры на каждом пятом срезе. Для облегчения процедуры подсчета использовали гистологический проектор "Визапан" ("Reichert", Австрия). Измерения длин курвиметром осуществляли непосредственно на проекциях срезов. Вместе с тем, отмечали положение пигментированных участков по отношению к зрительному нерву, условно разделив глазную чашу на периферическую, среднюю и центральную области (рис. 1).

Для электрофоретического анализа изоферментов ГФИ были выбраны следующие органы: головной мозг (правая и левая половины), почки (правая и левая) и печень, так как было интересно исследовать вклад ПГКК в органах эктодермального, мезодермального и энтодермального происхождения. Электрофоретический анализ проводили в 12%-ном крахмальном геле (DeLorenzo, Ruddle, 1969), количественную оценку соотношения клеточных клонов производили по методу двойных разведений (Klebe, 1975). Этот метод позволяет выявлять не менее 5% присутствия изофермента ГФИ-1В (маркера партеногене-

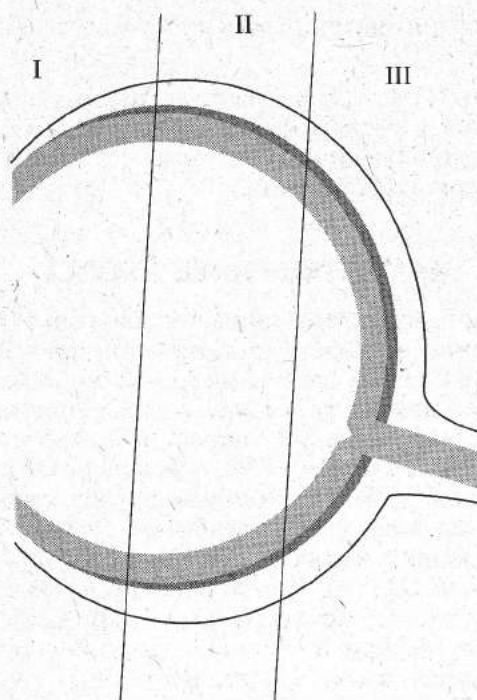


Рис. 1. Схема центрального сагиттального среза глаза: I – периферическая, II – средняя, III – центральная область глазной чаши, прилежащая к зрительному нерву.

тического компонента C57BL/6) в нативном го-могенате.

Статистическая обработка данных при помощи теста Вилкоксона и непараметрический кор-

реляционный анализ Спирмена были выполнены с использованием компьютерной программы "STATISTICA for Windows 5.1", StatSoft Inc., 1996.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные о распределении и процентном вкладе ПГКК в РПЭ и СО глаз партеногенетических химер C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c приведены в табл. 1. Для сопоставления результатов в таблице также приведены данные о процентном вкладе партеногенетических клонов меланобластов (ПГКМ) в шерстном покрове левой и правой половины тела химеры.

С помощью теста Вилкоксона, использованного для статистической обработки данных (для $n = 12$, $T \leq 14$), были выявлены существенные различия между долей вклада ПГКК в РПЭ правого и левого глаз ($T = 20$), а также ПГКМ в шерстном покрове левой и правой половины тела ($T = 15.5$). В то же время заметно определенное соответствие ($T < 14$) и высокая степень корреляции между долей вклада ПГКК в РПЭ правого или левого глаза и ПГКМ в шерстном покрове соответствующей половины тела химеры (коэффициент корреляции $r = 0.75$ для левой и $r = 0.81$ для правой половины; $p < 0.05$). Однако не установлено соответствия и достоверной корреляции между распределением ПГКМ в шерстном покрове и ПГКК как в РПЭ, так и в СО.

В сетчатке были представлены все слои, каких-либо следов клеточной дегенерации не наблюдалось. В фоторецепторном слое были от-

Таблица 1. Партеногенетические клоны меланобластов (ПГКМ) в шерстном покрове и партеногенетические клеточные клоны (ПГКК) в ретинальном пигментном эпителии (РПЭ) и сосудистой оболочке (СО) глаза у 12 партеногенетических химер C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c

Химера, пол	ПГКМ, %			ПГКК, %			
	всего тела	половины тела		в РПЭ		в СО	
		левая	правая	левый глаз	правый глаз	левый глаз	правый глаз
X1, ♀	17	27	7	12	2	4	1
X2, ♂	3	6	0	0	0	0	0
X3, ♂	4	3	5	2.5	5	<1	5
X4, ♀	35	45	25	41	27	42	6
X5, ♂	10	12	8	16	8	10	7
X6, ♀	~1	~0.5	~0.5	2	3	0	0
X7, ♀	2	1	3	0	0	»	»
X8, ♀	1	<1	2	1.5	2	<0.5	<0.5
X9, ♂	~1	»	<0.5	1	»	0	0
X10, ♀	25	22	28	10	35	»	33
X11, ♂	13	17	9	11	5	2	0
X12, ♀	10	15	5	12	»	3	»

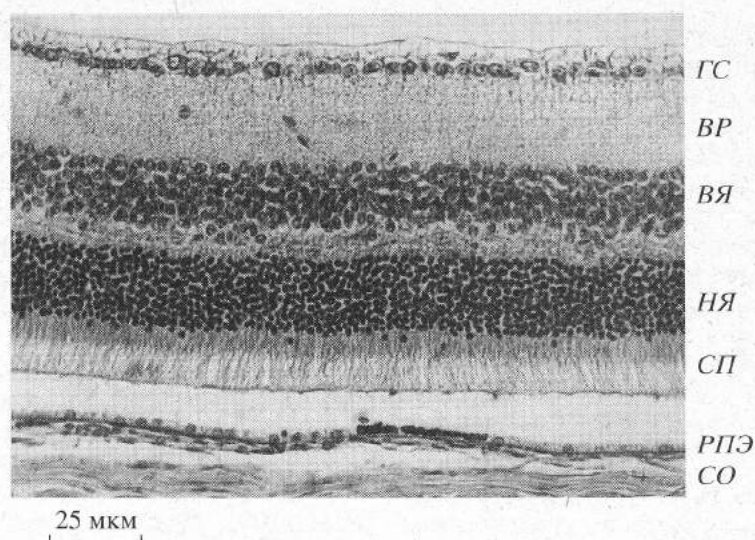


Рис. 2. Участок глаза химеры C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c: ГС – ганглиозный слой; ВР – внутренний ретикулярный слой; ВЯ – внутренний ядерный слой; НЯ – наружный ядерный слой; СП – слой палочек; РПЭ – ретикулярный пигментный эпителий с чередующимися пигментированными и непигментированными участками; СО – сосудистая оболочка. Окраска гематоксилин-эозином.

четливо выражены наружные и внутренние сегменты палочек (рис. 2).

Пигментированные участки РПЭ присутствовали во всех трех исследованных областях глазной чаши, их средняя протяженность составляла около 50 мкм (рис. 2), а максимальная – около 200 мкм. Непигментированные участки РПЭ, расположенные между соседними пигментированными участками, имели сходную с ними протяженность. Длина пигментированных участков РПЭ в центральной, средней и периферической областях глазной чаши варьировала примерно в одинаковых пределах.

Ни у одной из 12 химер не было обнаружено на электрофореграммах присутствия фракции ГФИ-1В в печени и почках. Только у двух химер (Х10 и Х4) с наибольшим процентом вклада ПГКМ в шерстном покрове (25 и 35% соответственно) было показано присутствие ПГКК в головном мозгу, причем здесь также отмечена асимметрия в распределении ПГКК, которая наблюдалась в шерстном покрове и РПЭ глаза. У химеры Х10 вклад ПГКК в левой половине головного мозга составил 11%, а в правой – 20%; у химеры Х4 этот вклад составил 33 и 20% в левой и правой половинах мозга соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Партеногенетические клетки имеют ограниченные потенции к развитию, они начинают дифференцироваться во всех тканях и органах зародыша, но не во всех типах тканей они способны нормально завершить процессы развития. По данным Фандела с соавторами (Fundele et al.,

1990), партеногенетические клетки в значительном количестве присутствуют во всех тканях химерных эмбрионов мышей до 12 сут развития, но уже у 13-суточных зародышей вклад партеногенетических клеток редко превышает 50%. Сурани с соавторами (Surani et al., 1988) показали, что до 10 сут развития можно обнаружить химерных зародышей мышей, у которых большинство клеток возникает из партеногенетического компонента. Эти данные свидетельствуют о том, что гибель партеногенетических клеток у химер начинается довольно рано в эмбриогенезе, в результате чего возникает неравномерное распределение ПГКК в формирующихся структурах химерного организма.

В ряде работ, выполненных с использованием обычных, непартеногенетических, химер указывается на высокую корреляцию в распределении клеточных клонов различного генотипа между парными органами (Sanyal, Zeilmaker, 1977; Куприянов, Конюхов, 1984; Киндяков и др., 1984; Малинина, Марчук, 1991). Однако у партеногенетических химер многие исследователи отмечают билатеральную асимметрию и отсутствие корреляции для парных органов в распределении ПГКК (Nagy et al., 1989; Fundele et al., 1990, 1991; Strain et al., 1995; Allen et al., 1995). Мы также наблюдали билатеральную асимметрию в распределении партеногенетических клонов эпидермальных меланобластов у партеногенетических химерных мышей C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c (Исаев и др., 1997).

Анализ распределения партеногенетических клеточных клонов в РПЭ и СО глаза показал, что

так же, как и в распределении ПГКМ в шерстном покрове, в указанных структурах глаза наблюдается асимметрия в распределении ПГКК. Выявлено соответствие и высокая степень корреляции по присутствию ПГКК в РПЭ правого или левого глаза и в шерстном покрове соответствующей половины тела химеры. Эти данные позволяют предположить, что существует определенная взаимосвязь между процессами, приводящими к характерному распределению партеногенетических клонов эпидермальных меланобластов и ПГКК в РПЭ у партеногенетических химер. Однако распределение ПГКМ в СО глаза не подчиняется такой закономерности и носит, по-видимому, случайный характер.

Средняя протяженность измеренных курвиметром пигментированных участков РПЭ и средняя длина его непигментированных участков, расположенных между соседними пигментированными участками, сходна. Пигментированные участки (партеногенетические клоны) были отмечены и в центральной и в периферической областях РПЭ, причем их длина не зависела от расположения. Все это указывает на достаточно высокую и сравнимую с нормальными клетками генотипа BALB/c жизнеспособность и пролиферативную активность партеногенетических клеток C57BL/6 в развитии и формировании РПЭ у химер. Причиной невысокого процента вклада ПГКК в РПЭ и их асимметричного распределения между правым и левым глазом у 11 из 12 химер (см. табл. 1) может являться бблшая гибель партеногенетических клеток еще до начала формирования РПЭ и изначально малое число ПГКК, принимающих участие в образовании зачатка РПЭ.

Несмотря на значительный процент вклада партеногенетических клеточных клонов у ряда химер (X1, X4, X5, X10, X11 и X12) в РПЭ и формирование пигментации шерстного покрова и СО глаза, электрофоретический анализ изоферментов ГФИ не выявил присутствия партеногенетического компонента в печени и почках. Причиной этого может быть отсутствие или очень низкий процент ПГКК в исследованных органах, что, очевидно, связано с интенсивной элиминацией в процессе развития химер партеногенетических клеток главным образом эндодермального и мезодермального происхождения. Это может быть характерным для мышей линии

C57BL/6, диплоидные партеногенетические эмбрионы которых не развиваются после имплантации до сомитных стадий. Следует отметить, что установлены различия в способности к партеногенетическому развитию у эмбрионов мышей различных инбредных линий. Так, развитие диплоидных партеногенетических эмбрионов мышей инбредных линий C57BL/6 и CBA значительно отличается: партеногенетические эмбрионы C57BL/6 в 95% случаев развиваются до стадии бластоцисты *in vitro*, но гибнут вскоре после имплантации в матку, в то время как партеногенетические зародыши CBA достигают стадии бластоцисты лишь в 23% случаев, но 26% от числа имплантировавшихся зародышей достигают сомитных стадий (Пенков, Платонов, 1992; Penkov et al., 1995, 1996). Поэтому можно ожидать, что потенции к развитию разных партеногенетических клонов клеток этих двух инбредных линий мышей у химер могут существенно отличаться. В последнее время с целью выявления различий потенций к развитию ПГКК линий мышей C57BL/6 и CBA в химерном организме нами была предпринята попытка получения химер между диплоидными партеногенетическими эмбрионами CBA и нормальными эмбрионами BALB/c. Несмотря на высокий процент химерных зародышей, достигших стадии бластоцисты, число новорожденных мышей было очень небольшим и химер среди них не оказалось (табл. 2). Следовательно, доимплантационное развитие химер CBA(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c и C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c протекает сходным образом, а постимплантационный период развития существенно отличается. В ходе органогенеза у партеногенетических химерных зародышей CBA(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c, по-видимому, происходит более интенсивный процесс элиминации ПГКК, чем у химерных зародышей C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c. Поэтому химерные эмбрионы CBA(PG) $\longleftrightarrow$ $\longleftrightarrow$ BALB/c погибают в постимплантационный период развития.

Клональный анализ химерных постимплантационных зародышей C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c и CBA(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c может пролить свет на особенности развития и гибели зародышей этих двух типов партеногенетических химер. В ближайшее время мы планируем провести такого рода исследование.

Таблица 2. Развитие партеногенетических химер C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c и CBA(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c

Химера	Агрегировано эмбрионов	Развилось до бластоцисты	Родилось мышей	Доля химер
C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c*	114 (100)	100 (89)	29 (25)	12 (10.5)
CBA(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c	117 (100)	104 (89)	4 (3)	0 (0)

Примечания. Цифры в скобках — %; * данные по этому типу химер взяты из работы: Исаев и др., 1997.

В работах других исследователей (Paldi et al., 1989; Nagy et al., 1989) также отмечено отсутствие либо низкий и нерегулярный вклад партеногенетического компонента в печени, почках, селезенке, желудке, скелетной мускулатуре и крови у взрослых партеногенетических химер (C57BL/6 × CBA)F₁(PG) ↔ (NMRI × BALB/c)F₁ и (C57BL/6 × CBA)F₁(PG) ↔ BALB/c. В то же время, эти авторы не обнаружили жесткой селекции против партеногенетических эпидермальных меланобластов в постнатальный период развития. Однако они не исключают, что подобная селекция может иметь место в других тканях и органах. У химер C57BL/6(PG) ↔ BALB/c мы также не наблюдали ослабления пигментации шерстного покрова, обусловленного ПГКМ, в постнатальном периоде онтогенеза. Сейчас трудно ответить на вопрос, почему партеногенетические эктодермальные клетки имеют большую жизнеспособность по сравнению с клетками эндодермального и мезодермального происхождения. Возможно, в клетках эктодермального происхождения эффекты импринтированных генов проявляются слабее. Следует отметить, что многие импринтированные гены все-таки экспрессируются, хотя и в очень слабой степени (Barlow, 1997).

Таким образом, у полученных и исследованных взрослых партеногенетических химер C57BL/6(PG) ↔ BALB/c сохраняются преимущественно ПГКК эктодермального происхождения — эпидермальные меланобласты, клетки РПЭ и головного мозга. В то же время у таких химер процесс элиминации партеногенетических клеток C57BL/6 эндодермального и мезодермального происхождения происходит очень интенсивно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Исаев Д.А., Платонов Е.С., Конюхов Б.В. Распределение партеногенетических клонов эпидермальных меланобластов у химерных мышей C57BL/6(PG) ↔ BALB/c // Онтогенез. 1997. Т. 28. № 4. С. 306–313.
- Киндяков Б.Н., Конюхов Б.В., Малинина Н.А. Изучение экспрессии мутантных генов у агрегационных химер мыши. 1. Ген *white* // Там же. 1984. Т. 15. № 2. С. 153–162.
- Конюхов Б.В. Клональный анализ онтогенеза млекопитающих // Успехи соврем. биологии. 1989. Т. 107. № 2. С. 274–288.
- Конюхов Б.В., Куприянов С.Д., Исабеков Б.С. Использование химерных и трансгенных животных для изучения экспрессии генов в онтогенезе // Успехи соврем. генетики. М.: Наука, 1988. Вып. 15. С. 106–142.
- Куприянов С.Д., Конюхов Б.В. Изучение экспрессии мутантных генов у агрегационных химер мыши. 2. Ген *dominant cataract-Fr* // Онтогенез. 1984. Т. 15. № 4. С. 348–355.
- Малинина Н.А., Марчук Е.Г. Анализ распределения клонов клеток в ретинальном пигментном эпителии у

- химерных мышей // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1991. № 2. С. 165–168.
- Пенков Л.И., Платонов Е.С. Изучение развития диплоидных партеногенетических зародышей мышей инбредных линий C57BL/6 и CBA // Онтогенез. 1992. Т. 23. № 4. С. 364–369.
- Allen N.D., Norris M.L., Surani M.A. Epigenetic control of transgene expression and imprinting by genotype-specific modifiers // Cell. 1990. V. 61. P. 853–861.
- Allen N.D., Logan K., Lally G. et al. Distribution of parthenogenetic cells in the mouse brain and their influence on brain development and behavior // Proc. Natl. Acad. Sci. USA: Developmental Biology. 1995. V. 92. P. 10782–10786.
- Barlow D.P. Competition — a common motif for the imprinting mechanism? // EMBO J. 1997. V. 16. № 23. P. 6899–6905.
- Cattanach B.M., Kirk M. Differential activity of maternally and paternally derived chromosome regions in mice // Nature (London). 1985. V. 315. P. 496–498.
- Clarke H.J., Varmuza S., Prideaux V.R. et al. The developmental potential of parthenogenetically derived cells in chimeric mouse embryos: implications for action of imprinted genes // Development. 1988. V. 104. P. 175–182.
- DeLorenzo R.J., Ruddle F.H. Genetic control of two electrophoretic variants of glucose phosphate isomerase in the mouse (*Mus musculus*) // Biochem. Genet. 1969. V. 3. № 2. P. 151–162.
- Fundele R., Norris M.L., Barton S.C. et al. Systematic elimination of parthenogenetic cells in mouse chimaeras // Development. 1989. V. 106. P. 20–35.
- Fundele R.H., Norris M.L., Barton S.C. et al. Temporal and spatial selection against parthenogenetic cells during development of fetal chimaeras // Ibid. 1990. V. 108. P. 203–211.
- Fundele R., Howlett S.K., Kothary R. et al. Developmental potential of parthenogenetic cells: role of genotype-specific modifiers // Ibid. 1991. V. 113. P. 941–946.
- Klebe R.J. A simple method for the quantitation of isozyme patterns // Biochem. Genet. 1975. V. 13. № 11/12. P. 805–812.
- McLaren A. Mammalian chimaeras. L.: Cambridge Univ. Press, 1976. 154 p.
- Nagy A., Paldi A., Dezso L. et al. Prenatal fate of parthenogenetic cells in mouse aggregation chimaeras // Development. 1987. V. 101. P. 647–71.
- Nagy A., Sass M., Markkula M. Systematic non-uniform distribution of parthenogenetic cells in adult mouse chimaeras // Ibid. 1989. V. 106. P. 321–324.
- Paldi A., Nagy A., Markkula M. et al. Postnatal development of parthenogenetic ↔ fertilized mouse aggregation chimaeras // Ibid. 1989. V. 105. P. 115–118.
- Penkov L.I., Platonov E.S., New D.A.T. Prolonged development of normal and parthenogenetic postimplantation mouse embryos *in vitro* // Int. J. Dev. Biol. 1995. V. 39. P. 985–991.
- Penkov L.I., Platonov E.S., Mironova O.V., Konyukhov B.V. Effect of 5-azacytidine on the development of parthenogenetic mouse embryos // Develop. Growth Differ. 1996. V. 38. P. 263–270.
- Sanyal S., Zeilmaker G.H. Cell lineage in retinal development of mice studied in experimental chimaeras // Nature. 1977. V. 265. P. 731–733.

Sapienza C., Peterson A.C., Rossant J. et al. Degree of methylation of transgenes is dependent on gamete of origin // *Ibid.* 1987. V. 328. P. 251–254.

Strain L., Warner J.P., Johnston T. et al. A human parthenogenetic chimaera // *Ibid.* 1995. V. 11. P. 164–169.

Surani M.A.H., Barton S.C., Kaufman M.H. Development to term of chimaeras between diploid parthenogenetic and fertilized embryos // *Ibid.* 1977. V. 270. P. 601–603.

Surani M.A.H., Barton S.C., Norris M.L. Influence of parental chromosomes on spatial specificity on androgenetic $\longleftrightarrow$ parthenogenetic chimaeras in the mouse // *Ibid.* 1987. V. 326. P. 395–397.

Surani M.A., Barton S.C., Howlett S.K. et al. Influence of chromosomal determinants on development of androgenetic and parthenogenetic cells // *Development.* 1988. V. 103. P. 171–178.

Surani M.A., Kothary R., Allen N.D. et al. Genome imprinting and development in the mouse // *Ibid.* 1990. V. 110 (Suppl.). P. 89–98.

Surani M.A.H., Sasaki H., Ferguson-Smith A.G. et al. The inheritance of germline-specific epigenetic modifications during development // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 1993. V. 339. P. 165–172.

Analysis of Parthenogenetic Cell Clones in Mouse Chimeras C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c

D. A. Isaev, O. V. Mironova, E. S. Platonov, and B. V. Konyukhov

Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, ul. Gubkina 3, Moscow, 117809 Russia

We studied the distribution of parthenogenetic cell clones in the retinal pigment epithelium and choroid of eyes on serial sections and in the brain, kidneys, and liver by electrophoretic analysis of glucose phosphate isomerase isozymes in 12 mouse chimeras C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c obtained earlier. Asymmetry was noted in the distribution of the parthenogenetic cell clones in the eye structure, just as the earlier established asymmetry in the distribution of the parthenogenetic clones of epidermal melanoblasts. A high correlation was shown between the ratio of parthenogenetic to normal cells in the retinal pigment epithelium of the right or left eye and epidermal melanoblasts in the hair cover of the corresponding body half of the chimera. These data suggest that there is a certain relationship between the processes leading to the characteristic distribution of the ectodermal parthenogenetic clones in the retinal pigment epithelium of the right and left eyes and epidermal melanoblasts in parthenogenetic chimeras. Electrophoretic analysis did not show parthenogenetic components in the liver or kidneys of any chimera, and the parthenogenetic component was found in the brain of only two chimeras, in which a high percentage of parthenogenetic cells of ectodermal origin was noted. In these cases, asymmetry was noted in the right and left cerebral hemispheres, just as in the retinal pigment epithelium of the right and left eyes. The data obtained suggest that, during the development of the chimeras, parthenogenetic C57BL/6 cells were actively eliminated from the tissues of endodermal and mesodermal origin. In adult chimeras C57BL/6(PG) $\longleftrightarrow$ BALB/c, parthenogenetic cell clones of ectodermal origin are mostly preserved.

Key words: mouse chimeras, parthenogenesis, clonal analysis.