

ISSN 0208-0613

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

СПЕЦВЫПУСК

ISSN 0208-0613



9 770208 061004

2019 МОСКВА

Том 37

Vol. 37

МЕДИА



СФЕРА

Институт молекулярной генетики РАН

Молекулярная генетика, микробиология и вирусология — научно-теоретический журнал
Выходит 4 раза в год
Основан в январе 1983 года

Статьи, публикуемые в журнале, полностью переводятся на английский язык и публикуются в США издательством ALLERTON PRESS, INC.

Сведения о статьях, публикуемых в журнале, размещаются в следующих российских и международных базах данных и информационно-справочных изданиях: Academic OneFile, BIOSIS, Biological Abstracts, CSA, EMBASE, Expanded Academic, Google Scholar, Health Reference Center Academic, Journal Citation Reports/Science Edition (интегрирован в поисковую платформу Web of Science), OCLC, SCImago, SCOPUS, Science Citation Index Expanded (SciSearch), Summon by ProQuest, РИНЦ.

Издательство «Медиа Сфера»:

127238 Москва,
Дмитровское ш., д. 46, корп. 2, этаж 4
Тел.: (495) 482-4329
Факс: (495) 482-4312
E-mail: info@mediasphera.ru
www.mediasphera.ru

Адрес для корреспонденции:

127238 Москва, а/я 54, «Медиа Сфера»
Отдел рекламы: (495) 482-0604
E-mail: reklama@mediasphera.ru
Отдел подписки: (495) 482-5336
E-mail: zakaz@mediasphera.ru

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов. Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов. Направляя статью в редакцию, авторы принимают условия договора публичной оферты. С правилами для авторов и договором публичной оферты можно ознакомиться на сайте: www.mediasphera.ru. Полное или частичное воспроизведение материалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного разрешения издателя — издательства «Медиа Сфера».

Адрес редакции:

127238 Москва, а/я 54, «Медиа Сфера», редакция журнала «Молекулярная генетика, микробиология и вирусология»
Тел.: +7 (905) 739-3435
e-mail: molgenetika@yandex.ru
Зав. редакцией И.Х. Измайлова

Оригинал-макет изготовлен издательством «Медиа Сфера»
Компьютерный набор и верстка:
О.В. Ненашева, Е.Л. Коган

Индекс по каталогу агентства «Роспечать» 71452

Подписано в печать
Формат 60×90 1/8. Тираж 1500 экз.
Усл. печ. л. 6. Заказ 5356
Отпечатано в ООО «ПКФ СОЮЗ-ПРЕСС»

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА, МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

2019

Том 37

Спецвыпуск

НАУЧНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор С.В. КОСТРОВ
Зам. гл. редактора Ю.М. РОМАНОВА
Ответственный секретарь Т.С. ИЛЬИНА

В.И. АГОЛ, А.Д. АЛЬТШТЕЙН, А.П. АНИСИМОВ,
В.А. ГВОЗДЕВ, В.Н. ГЕРШАНОВИЧ, А.Л. ГИНЦБУРГ,
И.В. ДЕМИДЮК, В.В. ДЕМКИН,
А.В. KARLYSHEV (UK), С.А. ЛИМБОРСКАЯ,
С.А. ЛУКЪЯНОВ, V.L. MOTIN (USA),
Н.Ф. МЯСОЕДОВ, С.В. НЕТЕСОВ, Е.Д. СВЕРДЛОВ,
Г.Б. СМИРНОВ, Н.И. СМИРНОВА,
В.З. ТАРАНТУЛ, М.М. ШМАРОВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

А.М. БОРОНИН (Пушино-на-Оке),
А.А. ПРОЗОРОВ (Москва),
С.В. ШЕСТАКОВ (Москва)

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК) Министерства образования и науки РФ журнал «Молекулярная генетика, микробиологии и вирусология» включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендована публикация основных результатов диссертационных исследований на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Издательство МЕДИЯ СФЕРА Москва • MEDIA SPHERA Publishing GROUP Moscow

**VIII МЕЖДУНАРОДНАЯ ШКОЛА
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКЕ
«ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ
ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ»**



Тезисы докладов



**НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»**



**МИНИСТЕРСТВО
НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ ИНСТИТУТ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ РАИ**

При финансовой поддержке

**БЛАГОТВОРИТЕЛЬНОГО ФОНДА
«БУДУЩЕЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ»
РОССИЙСКОГО ФОНДА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
ООО «ДИАЭМ»**

19—23 ноября 2018 г.

МОСКВА — ЗВЕНИГОРОД

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Сопредседатели Оргкомитета:

М.В. Ковальчук, член-корреспондент РАН

Е.Д. Свердлов, академик РАН

Заместители председателей Оргкомитета:

С.В. Костров, член-корреспондент РАН

С.А. Лимборская, доктор биологических наук, профессор

В.А. Гвоздев, академик РАН

В.Г. Дебабов, академик РАН

Н.Ф. Мясоедов, академик РАН

В.О. Попов, член-корреспондент РАН

Л.Е. Андреева

И.В. Бойцова

Р.Г. Василов

Л.В. Дергунова

Т.А. Коломин

А.Л. Коневега

А.В. Кульбачинский

Ю.А. Пухова

Р.А. Санду

П.А. Сломинский

И.В. Спорыхина

В.В. Ставчанский

Т.В. Тупицына

И.Б. Филиппенков

А.В. Хрунин

Г.В. Хворых

А.С. Яненко

Содержание

ТЕЗИСЫ УСТНЫХ ДОКЛАДОВ

Агапов А.А., Есюнина Д.М., Кульбачинский А.В.

Регуляция работы РНК-полимеразы радиоустойчивой бактерии *Deinococcus radiodurans* на поврежденных ДНК-матрицах 11

Адашев В.Е., Котов А.А., Годнеева Б.К., Оленкина О.М., Оленина Л.В.

Изучение роли РНК-хеликазы Belle в сперматогенезе *Drosophila melanogaster* 11

Акимов В.Э., Дмитриева В.Г., Дергунова Л.В., Хрунин А.В.

Геномный и транскриптомный анализ потенциальных маркеров болезни Альцгеймера 11

Алексеева Л.М., Узун М.М., Козяева В.В., Сухачева М.В., Патутина Е.О., Слободова Н.В., Груздев Д.С.

Использование маркерного гена *tatK* для изучения разнообразия магнитотактических бактерий 12

Аликина О.В., Глазунова О.А., Сырочева А.О., Шавкунов К.С., Озолинь О.Н.

Модельный перенос генов в геном кишечной палочки вызвал адаптивный ответ на уровне экспрессии перенесенных генов и ускоренный локальный мутагенез 12

Андреева А.А., Барадиева Э.Ц., Шрам С.И.

Фенотипирование дифференцированных клеток кардиомиобластов крысы Н9с2 с использованием морфологических и иммуноцитохимических критериев 12

Андреюшкова Д.А., Лисачев А.П., Трифонов В.А.

Получение хромосомспецифичных библиотек быстрой ящурки, *Eremias velox* (семейство Настоящие ящерицы) 13

Анучина А.А., Лавров А.В., Смирнихина С.А.

Исследование механизмов активации направленной гомологичной репарации через Tudor-взаимодействующий регулятор TIRR 13

Артыков А.А., Яголович А.В., Гаспарян М.Э.

Новый способ получения белка DR5-B V114C на основе противоопухолевого цитокина TRAIL 14

Астапенко А.В., Аммура Ю.И., Файзулов Е.Б.

Разработка метода количественного определения штамма «Москва» реовируса на основе ПЦР с детекцией в режиме реального времени 14

Ахмедзянова М.

Сравнение этиологии возникновения рака молочной железы и рака прямой кишки 14

Базылев С.С., Адашев В.Е., Годнеева Б.К., Котов А.А., Аравин А.А., Оленина Л.В.

Участие рiРНК-сайленсинга в межвидовой репродуктивной изоляции у *Drosophila* 15

Бахчеван Е.Л., Борисова О.В.

Генетические формы тромбофилии — возможный маркер осложнений при заместительной гормональной терапии у женщин в климактерическом периоде 15

Бахшиев А.Г.

Влияние метеорологических условий на распространение фитоплазмы у томатов 15

Башинская В.В., Коляда А.К., Мурланова Е.В., Борисович Ю.Г., Загородняя О.А., Дарвишов Н.Р., Мосейко В.В.,

Осичанская Д.П., Вайсерман А.М.
Поиск генетических факторов риска аддиктивного поведения на примере курения 16

Бебьякова Н.А., Куба А.А., Хромова А.В.

Ассоциация полиморфизма -786 T>C гена NOS3 с артериальной гипертензией у пожилых мужчин 16

Бейлин А.К., Черных Э.С., Щенетов Д.М., Воротеляк Е.А.

Выявление причины мутантного фенотипа мышей wellhaarig (we) 16

Бибиков Н.М., Семенова М.В., Рубцова Е.А., Короткова О.Г.

Создание химерной эндоглюканазы II, содержащей целлюлозосвязывающий домен, в штамме *Penicillium canescens*, и изучение свойств продукта 17

<i>Бобохужаев Ш.У., Абдукаримов Ш.С., Макамов А.Х., Санамьян М.Ф.</i> Идентификация анеуплоидных гибридов с замещениями отдельных хромосом или их плеч с помощью цитогенетического и молекулярно-генетического анализа	17
<i>Богданова М.В., Буракова А.А., Царь А.И., Хоружий Н.Е., Сакович В.И., Лемеш В.А.</i> Сравнительный анализ уровней генетического разнообразия культурных сортов и дикорастущих популяций <i>Brassica napus</i>	17
<i>Болдинова Е.О., Макарова А.В.</i> Белок PolDIP2 стимулирует днк-полимеразную активность PrimPol человека	18
<i>Бондаренко К.А., Макарова А.В.</i> Получение аптамеров к PrimPol	18
<i>Борисова О.В., Бахчеван Е.Л.</i> Полиморфизм генов фолатного цикла: частота и ассоциация с биохимическими показателями у детей с расстройствами аутистического спектра.....	18
<i>Бочарова Е.С.</i> Эволюционная динамика популяционно-генетической структуры у частично клональных видов актиний	19
<i>Брулер Е.С., Сергина С.Н., Антонова Е.П., Морозов А.В.</i> Роль пинеальной железы и мелатонина в механизмах фотопериодического ответа у млекопитающих	19
<i>Валуйских О.Е., Тетерюк Л.В., Пылина Я.И., Сушенцов О.Е., Шадрин Д.М.</i> Молекулярно-генетический анализ прострелов <i>Pulsatilla</i> в Республике Коми.....	19
<i>Василева Е.А., Леонова Т.С., Мамонтова В.А., Старшова П.А., Федорова О.А., Дакс А.А., Шувалов О.Ю., Петухов А.В., Барлев Н.А.</i> Роль метилтрансферазы Set7/9 в Sam68-опосредованной регуляции клеточного цикла	20
<i>Велегжанинов И.О., Пылина Я.И., Шадрин Д.М., Белых Е.С., Рыбак А.В.</i> Регуляция радиостойчивости клеток с помощью технологии CRISPRa	20
<i>Волков А.А., Румянцев А.М.</i> Изучение взаимосвязи транспорта аминокислот и метаболизма метанола у дрожжей <i>Pichia pastoris</i>	20
<i>Волков П.В., Денисенко Ю.А., Рожкова А.М., Сеницын А.П.</i> Экспрессия химерной полисахаридмонооксигеназы с присоединенным целлюлозосвязывающим модулем в штамме-реципиенте <i>Penicillium verruculosum</i>	21
<i>Гагаринская Д.И., Болдинова Е.О., Макарова А.В.</i> Выделение полноразмерного репликативного регуляторного фактора PolDIP2	21
<i>Гармаш Е.В., Велегжанинов И.О., Силина Е.В., Кузванова О.А., Ермолина К.В., Головки Т.К.</i> Экспрессия генов и активность ферментов аскорбат-глутатионового цикла в зеленеющем листе пшеницы	21
<i>Гейдаров Р.Н., Титов С.В., Попов А.Ю., Михайлович В.М.</i> Определение частот встречаемости аллельных вариантов генов <i>UGTA1</i> , <i>DPYD</i> , <i>GSTP1</i> и <i>ABCB1</i> в популяции восточных славян	22
<i>Герасимова Е.М., Качкин Д.В., Зелинский А., Рубель А.А., Чернов Ю.О.</i> Изучение амилоидогенного белка РНС3 на клеточной культуре млекопитающих НЕК293	22
<i>Гималова Г.Ф., Абдуллин З.С., Сакаева Д.Д., Хуснутдинова Э.К.</i> Поиск мутаций в хромосомной области 17p13 у больных мелкоклеточным раком легкого из Республики Башкортостан.....	22
<i>Гирнык А.Е., Доценко И.Б., Вергун А.А.</i> Биологические и генетические характеристики партеногенетических ящериц <i>Darevskia armeniaca</i> , ассимилированных в новых условиях обитания.....	23
<i>Громов К.Б.</i> Филогенетический анализ гена <i>nef</i> ВИЧ-1 суб-субтипа А6 в сравнении с суб-субтипом А1 и субтипом В	23
<i>Денисенко Ю.А., Волков П.В., Осипов Д.О., Семенова М.В., Рожкова А.М., Короткова О.Г., Сеницын А.П.</i> Экспрессия гомологичной полисахаридмонооксигеназы в штамме-реципиенте <i>Penicillium verruculosum</i> В1-537	23

<i>Денисова А.Е., Филиппенков И.Б., Ставчанский В.В., Дергунова Л.В., Губский Л.В.</i> Применение магнитно-резонансной томографии в анализе нейропротективного эффекта пептидного препарата семакс в условиях модели обратимой фокальной ишемии мозга у крыс	24
<i>Дмитриева Т.М., Кузмицкая П.В., Урбанович О.Ю.</i> Оценка полиморфизма генов дегидринов мягкой пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L.)	24
<i>Доронин С.А., Ульянов С.В., Храмева Е.Е., Разин С.В., Шевелев Ю.Я.</i> Ядерная ламина обеспечивает правильную пространственную организацию хроматина в интерфазном ядре.....	25
<i>Дюдеева Е.С., Курусь Н.Н., Дульцев Ф.Н., Ломзов А.А., Шевелев Г.Ю., Пышный Д.В.</i> Исследование кинетики гибридизации олигонуклеотидов ДНК методом VFDM	25
<i>Евстигнеева С.С., Федоненко Ю.П.</i> Структурные особенности экстраклеточных и мембранных гликанов флокулирующих культур бактерий <i>P. Azospirillum</i>	25
<i>Екомасова Н.В., Литвинов С.С., Джаубермезов М.А., Габидуллина Л.Р., Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К.</i> Изучение генетической структуры популяций башкир, татар и чувашей по данным об изменчивости Y-хромосомы	26
<i>Елизарова В.С., Астрейко М.О., Бебякова Н.А.</i> Влияние левзеи сафлоровидной (<i>Rhaponticum carthamoides</i>) на поведенческие характеристики крыс в условиях иммобилизационного стресса	26
<i>Еникеева Р.Ф., Казанцева А.В., Хуснутдинова Э.К.</i> Анализ ассоциаций полиморфных локусов rs6277 и rs2283265 гена DRD2 с фенотипическими вариациями в уровне математической тревожности.....	26
<i>Заварухина А.Н., Золотаренко А.Д.</i> Изучение роли отдельных генов семейства AP-1 в регуляции важных для псориаза характеристик кератиноцитов....	27
<i>Зайцев С.С., Салтыков Ю.В., Субботина И.А., Филонова Н.Н., Федорова В.А.</i> Молекулярно-генетическое типирование штаммов <i>Chlamydia trachomatis</i>	27
<i>Зайцев С.С., Салтыков Ю.В., Яковлев С.И., Ларионова О.С., Евстифеев В.В., Федорова В.А.</i> Результаты пилотного секвенирования штамма хламидий зоонозного происхождения на платформе Illumina HiSeq 2500	27
<i>Зачепило Т.Г., Лопатина Н.Г.</i> Диметилирование гистона H3K4 участвует в формировании памяти у медоносной пчелы	28
<i>Земская Н.В., Соловьев И.А., Коваль Л.А., Шеголева Е.В., Москалев А.А.</i> Влияние витаферина-А на качество и продолжительность жизни особей <i>Drosophilame lanogaster</i>	28
<i>Иванова А.В., Румянцев А.М.</i> Исследование регуляции генов полиаминоксидаз у дрожжей <i>Pichia pastoris</i>	28
<i>Иванова Е.В., Кипень В.Н.</i> Оценка частоты распространенности полиморфизма rs80981028 в гене гефестина для вида <i>Sus scrofa</i>	29
<i>Иванова Ю.С., Фомина М.Н., Пай О.А.</i> Морфологические особенности и геометрическая характеристика зерна голозерных образцов овса	29
<i>Каныгина А.В., Котова Е.С.</i> Анализ дифференциальной экспрессии ретротранспозонов в раковой и нормальной ткани предстательной железы с использованием транскриптомных данных	30
<i>Карапетьян О.Ш., Бибов М.Ю., Добаева Н.М.</i> Роль VDAC1 в поиске эффективных фотосенсибилизаторов при фотодинамической терапии рака	30
<i>Климентова Е.А., Гилязова И.Р., Бермишева М.А., Измайлов А.А., Павлов В.Н., Хуснутдинова Э.К.</i> Исследование профилей экспрессии генов микроРНК у пациентов с метастатическим раком почки	30
<i>Коваль Л.А., Земская Н.В., Шапошников М.В., Москалев А.А.</i> Изучение стрессоустойчивости у долгоживущих особей <i>Drosophila melanogaster</i> , мутантных по гену <i>E(Z)</i>	31

<i>Козарь Е.В., Домблides Е.А., Солдатенко А.В., Домблides А.С.</i> Оценка уровня ploидности удвоенных гаплоидов редиса, полученных в культуре изолированных микроспор <i>in vitro</i>	31
<i>Кондратьева Е.В., Лавров А.В., Вареников Г.Г., Скоблов М.Ю.</i> Целенаправленное однонуклеотидное редактирование позволяет корректировать сотни патогенных вариантов наследственных заболеваний	31
<i>Коновалова М.В., Царегородцева Д.С., Свищевская Е.В.</i> Анализ врожденного иммунитета у мышей разных линий	32
<i>Копытова А.Э., Николаев М.А., Рычков Г.Н., Сенкевич К.А., Байдакова Г.В., Захарова Е.Ю., Емельянов А.К. Пчелина С.Н.</i> Разработка подходов к терапии болезни Гоше и болезни Паркинсона.....	32
<i>Кордюкова М.Ю., Побегуц О.В., Бутенко И.О., Абрамов Ю.А., Оленкина О.М., Калмыкова А.И.</i> Теломерные рибонуклеопротеиновые комплексы нарушают биогенез компонентов митотического аппарата при дисфункции теломер в процессе раннего развития <i>Drosophila</i>	32
<i>Кропачева Е.В., Есюнина Д.М., Аравин А.А., Кульбачинский А.В.</i> Выделение белка-аргонавта из <i>Runella slithyiformis</i> и исследование его каталитической активности	33
<i>Кузмицкая П.В., Урбанович О.Ю.</i> Идентификация стресс-ассоциированных белков, содержащих домены цинковых пальцев A20/AN1 в геноме яблони.....	33
<i>Кулабухова Д.Г., Гараева Л.А., Штам Т.А., Камышинский Р.А., Варфоломеева Е.Ю., Верлов Н.А., Волницкий А.В., Ланда С.Б., Сенкевич К.А., Милиухина И.В., Гаврилов Г.В., Емельянов А.К., Пчелина С.Н.</i> Влияние экзосом CV: и плазмы крови пациентов с болезнью Паркинсона на выживаемость нейрональных культур.....	33
<i>Кулак М.М., Комиссаров А.С., Демин А.Г., Фийон В., Сайфитдинова А.Ф., Павлова О.А., Гагинская Е.Р., Галкина С.А.</i> Новые тандемные повторы, идентифицированные в геноме японского перепела	34
<i>Лага В.Ю.</i> Анализ мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ у пациентов, заразившихся за пределами Российской Федерации	34
<i>Лашкул В.В., Качкин Д.В., Чернов Ю.О., Рубель А.А.</i> Разработка дрожжевой модели для фенотипического анализа конформационного перехода прионного белка PrP.....	34
<i>Лемеш В.А., Богданова М.В., Буракова А.А., Добыш О.И., Кипень В.Н., Виноградов А.А.</i> Разработка MS-SnuPE праймеров для определения статуса метилирования генов человека ELOVL2, F5 и ZYG11A	35
<i>Лисицкая Л.А., Комар А.А., Есюнина Д.М.</i> Выделение нуклеазы, ассоциированной с белком-Аргонавтом бактерии <i>Rhodobacter sphaeroides</i>	36
<i>Лужин А.В., Величко А.К., Петрова Н.В., Кантидзе О.Л.</i> Роль фосфатидилинозитол 3-киназа подобных киназ (PIKK) в индуцированном гипертермией репликативном стрессе	36
<i>Мамонтова В.А., Петухов А.В., Шувалов О.Ю., Федорова О.А., Барлев Н.А., Дакс А.А.</i> Нокаут метилтрансферазы Set7/9 повышает чувствительность клеток рака легкого к генотоксическим препаратам.....	36
<i>Мензоров А.Г., Беклемишева В.Р.</i> Эффективная трансдукция фибробластов ластоногих с помощью неинтегриративных векторов	37
<i>Мешалкина Д.А., Казалов М.А., Кисель Э.В., Мизгирев И.В., Федорова Я.В., Козлова А.Н., Малашичев Е.Б.</i> Создание рыб зебраданию (<i>Danio rerio</i>) с нокаутами по генам транспортеров серотонина (<i>slc6a4a</i> и <i>slc6a4b</i>) как модели аффективных расстройств.....	37
<i>Мосейко В.В., Коляда А.К., Сизенко А.К., Будовская Л.А., Пучков К.С., Гавалко Ю.В., Романенко М.С., Вайсерман А.М.</i> Связь между индексом массы тела и соотношением <i>Firmicutes</i> и <i>Vactemidetes</i> в микробиоме кишечника в зрелого населения Украины	37
<i>Некрасов Д.В., Курусъ Н.Н., Дульцев Ф.Н., Ломзов А.А., Шевелев Г.Ю., Пышный Д.В.</i> Использование кварцевого резонатора для определения термодинамических параметров механической денатурации двойной спирали ДНК.....	38

<i>Никитин М.В., Простова М.А., Есюнина Д.М., Комар А.А., Кульбачинский А.В.</i> Выделение специализированных днк-полимераз экстремофильной бактерии <i>Deinococcus gobiensis</i>	38
<i>Новосадова Е.В., Арсеньева Е.Л., Ванюшина Ю.Н., Малова Т.В., Антонов С.А., Тарантул В.З., Гривенников И.А.</i> Получение астроцитов из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека	38
<i>Носова А.Ю., Царь А.И., Буракова А.А., Добыш О.И.</i> Видовая идентификация пищевой продукции из лососевых рыб (salmonidae)	39
<i>Носова Е.В., Дмитриева В.Г., Рожкова А.В., Дергунов А.Д., Литвинов Д.Ю., Дергунова Л.В.</i> Особенности экспрессии генов, функционирующих в клетках крови человека и вовлеченных в атерогенез при различном содержании холестерина липопротеинов высокой плотности	39
<i>Олина А.В., Агапов А.А., Есюнина Д.М., Кульбачинский А.В.</i> Система для поиска белков-партнеров рнк-полимеразы в клетках <i>Deinococcus radiodurans</i>	40
<i>Орехова М.М., Якунина М.В.</i> Механизм узнавания промотора невирионной РНК-полимеразой бактериофага phiKZ.....	40
<i>Орлов М.А., Гаранина И.А., Фисунов Г.Ю., Сорокин А.А.</i> Связь физико-химических и функциональных свойств промоторов <i>Mycoplasma gallisepticum</i>	40
<i>Орлова С.Ю., Орлов А.М.</i> Особенности микроэволюции антимор (<i>Antimora</i> spp., Morigidae, Gadiformes) по данным митохондриальных маркеров.....	41
<i>Павлова Л.Е., Тимина М.Ф., Шмалый А.В., Янус Г.А., Имянитов Е.Н.</i> Генотипирование макак резус (<i>Macaca mulatta</i>) адлерского приматологического центра по полиморфизму гена <i>OPRM1</i>	41
<i>Пай О.А., Фомина М.Н., Иванова Ю.С.</i> Оценка коллекционных образцов ярового овса на устойчивость к распространенным заболеваниям в зоне Северного Зауралья.....	41
<i>Петрова Д.В., Кошлань Н.А., Говорун Р.Д., Блага П., Богданова Ю.В., Кошлань И.В.</i> Цитогенетический анализ хромосомных нарушений в клетках китайского хомячка в разные сроки после гамма-облучения ⁶⁰ со	42
<i>Плюта В.А., Мелькина О.Е., Сидорова Д.Е., Завильгельский Г.Б., Хмель И.А.</i> Действие летучих органических соединений, синтезируемых микроорганизмами, на экспрессию генов <i>copA</i> , <i>arsR</i> и <i>zntA</i> , индуцируемых в ответ на присутствие в среде ионов тяжелых металлов и мышьяка.....	42
<i>Побединцева М.А., Макунин А.И., Кичигин И.Г., Сердюкова Н.А., Интересова Е.А., Заделенов В.А., Юрченко А.А., Щербаков Д.Ю., Графодатский А.С., Трифонов В.А.</i> Популяционная генетика осетровых в реках Сибири	43
<i>Полтораченко В.А., Юдкина А.В., Жарков Д.О., Макарова А.В.</i> Выделение ДНК-гликозилазы человека MUTYH	43
<i>Полуконова А.В., Дидыч Д.А., Свердлов Е.Д.</i> Характеристика опухолей трех аллографтных моделей мыши по экспрессии потенциальных строма-специфичных генов.....	43
<i>Пономарева Е.В., Ведяйкин А.Д., Вишняков И.Е., Ходорковский М.А.</i> Белок-белковые взаимодействия с участием <i>ftsZ</i> в клетках микоплазм.....	44
<i>Прописцова Е.А., Галинская Т.В.</i> Применение молекулярных маркеров COI и 12S для уточнения филогении группы видов <i>Pardosa lugubris</i>	44
<i>Пурвиныш Я.В., Грищенко И.В.</i> Исследование влияния активной транскрипции на экспансию повторов в модельных линиях клеток	44
<i>Пылина Я.И., Шадрин Д.М., Белых Е.С., Велегжанинов И.О., Старцева О.М., Белых Д.В.</i> Поиск новых ФС для ФДТ онкологических заболеваний среди димерных производных хлорофилла А.....	45

<i>Радион Е.И., Рязанский С.С., Глухов С.И., Абрамов Ю.А., Калмыкова А.И.</i> Влияние инсуляторного комплекса <i>gurus</i> на функционирование рiРНК кластеров в герминальных тканях <i>Drosophila</i>	45
<i>Родионова Д.А., Чанышев М.Д., Благодатских К.А., Коваль А.П., Щербо Д.С.</i> Избирательное повышение представленности фрагментов гена EGFR, содержащих клинически значимые мутации, на фоне избытка ДНК «дикого типа»	45
<i>Романишко Е.Л.</i> Исследование свиньи домашней с помощью расширенной панели микросателлитных локусов для анализа достоверности происхождения	46
<i>Селина П.И., Рощина М.П., Сафина Д.Р.</i> Функционирование генетических конструкций различной структуры в эукариотических системах	46
<i>Сидорин А.В., Румянцев А.М.</i> Изучение механизмов передачи регуляторных сигналов от Тог-киназы к генам метаболизма метанола у дрожжей <i>Pichia pastoris</i>	46
<i>Снытков Е.В., Смирнова Е.Г., Купень В.Н., Мельнов С.Б.</i> Точность кластеризации при использовании метода HRM (High resolution melting) в зависимости от разницы температуры плавления альтернативных аллелей	47
<i>Ставчанский В.В., Филиппенков И.Б., Денисова А.Е., Дергунова Л.В.</i> Анализ экспрессии генов нейротрансмиттерных систем в клетках подкорковых структур и лобно-теменной коры головного мозга крыс в условиях церебральной ишемии	47
<i>Степаненко Е.А., Вовк А.Д., Рекунова М.В., Побережный Д.Ю., Макарова И.В., Щербатова Н.А., Андреева Л.Е., Марков Д.Д., Ненашева В.В., Тарантул В.З.</i> Исследование влияния гена <i>TRIM14</i> на поведение трансгенных мышей и транскрипцию генов, кодирующих нейротрофины	48
<i>Тимашева Я.Р., Эрдман В.В., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Мустафина О.Е.</i> Анализ профилей экспрессии генов медиаторов воспаления у пациентов с эссенциальной гипертензией	48
<i>Тимина М.Ф., Шмалый А.В., Павлова Л.Е., Агумава А.А.</i> Разработка и оптимизация тест-системы ПЦР с гибридационно-флуоресцентным методом детекции для обнаружения парвовируса в лабораторной диагностике	48
<i>Узун М., Алексеева Л.М., Круткина М.С., Козяева В.В., Груздев Д.С.</i> Расширение знаний о разнообразии магнитотактических бактерий посредством анализа метагеномных данных	49
<i>Филиппенков И.Б., Ставчанский В.В., Денисова А.Е., Ионов Н.С., Дергунова Л.В.</i> Роль циклоРНК-микрорнк-мРНК взаимодействий в клетках головного мозга крысы в условиях церебральной ишемии	49
<i>Фомина Е.А.</i> Изучение коллекции сортов и линий пшеницы (<i>triticum aestivum</i> L.) по аллельному составу генов hmw глютеинов	49
<i>Хлебаева Д.А.-А., Зачепило Т.Г., Дюжикова Н.А.</i> Определение первичной последовательности экзонов и CpG-островков в гене <i>Bdnf</i> у крыс с генетически различным уровнем возбудимости нервной системы	50
<i>Цаплина О.А., Хайтлина С.Ю., Артамонова Т.О., Байтин Д.М., Бахланова И.В.</i> Регуляция SOS-ответа бактерий протеализином	50
<i>Царь А.И., Носова А.Ю.</i> Видовая идентификация осетровых рыб (Acipenseridae)	50
<i>Чапров К.Д., Тетерина Е.В.</i> Анализ прогрессии МФТП-индуцированного Паркинсонического синдрома	51
<i>Шараев Н.И., Румянцев А.М.</i> Изучение роли сенсоров аминокислот в регуляции генов метаболизма метанола у дрожжей <i>Pichia pastoris</i>	51

Шейнов А.А., Татарский Е.В., Георгиева С.Г., Сошникова Н.В.	
Phf10 — субъединица ремоделирующего хроматин rba1 комплекса регулируется киназами pi3k/Akt-сигнального пути.....	51
Шелякин М.А., Захожий И.Г., Силина Е.В., Пылина Я.И., Шадрин Д.М., Чадин И.Ф., Головки Т.К.	
Структурно-функциональная организация и генетическая дифференциация популяции растений <i>Plantago media</i> L. На Южном Тимане	52
Шилкин Е.С., Макарова А.В.	
5'-дезоксирибофосфат-лиазная активность полиморфных вариантов Pol iota человека.....	52
Шишлова-Соколовская А.М., Кузмицкая П.В., Кветко Е.П., Урбанович О.Ю.	
Создание генетической конструкции, несущей ген дегидрина <i>TaDHN19 triticum aestivum</i>	53
Шмитко А.О., Оленкина О.М., Комаров П.А., Кордюкова М.Ю., Радион Е.И., Калмыкова А.И.	
Вклад системы piРНК в регуляцию теломерного ретроэлемента TART в герминальных тканях <i>Drosophila</i>	53
Ялаев Б.И., Хусаинова Р.И.	
Поиск ассоциаций полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК с первичным остеопорозом у мужчин и женщин	53
ТЕЗИСЫ СТЕНДОВЫХ СООБЩЕНИЙ	
Андрющенко С.В., Здвижкова И.А., Бекпергенова А.В., Семеновых Т.А., Рахматуллина О.И.	
Проблемы определения механизмов антилизозимной активности и лизозимрезистентности энтеробактерий.....	54
Васильева О.Ю., Васильев С.А., Зарубин А.А., Скрябин Н.А.	
Детекция мутаций при несовершенном остеогенезе с помощью таргетного массового параллельного секвенирования	54
Григоров А.С., Салина Е.Г., Быченко О.С., Капрельянец А.С., Ажикина Т.Л.	
Роль DtgS, малой некодирующей РНК <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , в адаптации к макрофагальному стрессу	55
Дьяконов Е.Е., Артамонова Т.О., Ходорковский М.А., Цимоха А.С.	
Масс-спектрометрический анализ посттрансляционных модификаций клеточных и внеклеточных протеасом.....	55
Игнатов Д., Каллиполитис Б., Фрейтаг Н., Йоханссон Й.	
Анализ вторичной структуры РНК у патогенной бактерии <i>Listeria monocytogenes</i>	55
Макаревич А.Е., Панкратов В.С., Синявская М.Г., Луханина Н.В., Шимкевич А.М., Голоенко И.М., Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г.	
Секвенирование геномов хлоропластов и митохондрий как метод изучения филогении ячменя	56
Портная Я.А., Злобин В.И., Джюев Ю.П.	
Биоинформационный анализ CRISPR/Cas-системы вида <i>Y. similis</i> штамм 228	56
Прокопов Д.Ю., Билтуева Л.С., Трифонов В.А.	
Идентификация и аннотация повторяющейся ДНК в геноме стерляди (<i>Acipenser ruthenus</i>).....	56
Салтыков Ю.В., Зайцев С.С., Субботина И.А., Федорова В.А.	
Полиморфизм гена <i>omp1 Chlamydia trachomatis</i>	57
Устьянцев И.Г., Татосян К.А., Стасенко Д.В.	
Полиаденилирование транскриптов SINE, синтезируемых РНК-полимеразой III, значительно увеличивает их время жизни в клетке	57
Черезов Р.О., Воронцова Ю.Е., Симонова О.Б.	
Сравнительный анализ экспрессии AHR, ARNT и их генов-мишеней в клеточных культурах опухолевого и неопухолевого происхождения	57
Авторский указатель тезисов устных докладов.....	59
Авторский указатель тезисов стендовых сообщений	61

Тезисы устных докладов

РЕГУЛЯЦИЯ РАБОТЫ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ РАДИОУСТОЙЧИВОЙ БАКТЕРИИ *DEINOCOCCUS RADIODURANS* НА ПОВРЕЖДЕННЫХ ДНК-МАТРИЦАХ

А.А. Агапов, Д.М. Есюнина, А.В. Кульбачинский

ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Москва, Россия, 123182; e-mail: al.a.agapov@gmail.com

Повреждения ДНК могут значительно влиять на точность и эффективность транскрипции. В то же время РНК-полимераза (РНКП) является одним из главных сенсоров повреждений ДНК в клетке. У *Escherichia coli* ключевую роль в сопряжении транскрипции и репарации играет транслоказа Mfd: она удаляет РНКП с поврежденного участка ДНК и привлекает факторы репарации. Мы исследовали транскрипцию поврежденной ДНК РНК-полимеразой стрессоустойчивой бактерии *Deinococcus radiodurans* (*Dra*) на матрицах, содержащих повреждения 8-оксогуанин, 6-О-метилгуанин, тиминный димер, тимин-гликоль, АП-сайт и этеноаденин. Мы показали, что эти повреждения значительно снижают эффективность и точность синтеза РНК. Мы обнаружили, что филум-специфичные Mn^{2+} -зависимые транскрипционные факторы Gfh *Dra* усиливают транскрипционные паузы, возникающие на поврежденной ДНК. Согласно нашим данным, транслоказа Mfd *Dra* приводит к диссоциации остановленных в поврежденных участках элонгационных комплексов РНКП, причем этот эффект усиливается в присутствии Gfh-факторов. Мы предполагаем важную роль белков Gfh и Mfd в координации процессов транскрипции и репарации ДНК в клетках *Dra* в стрессовых условиях.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ РНК-ХЕЛИКАЗЫ BELLE В СПЕРМАТОГЕНЕЗЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

В.Е. Адашев, А.А. Котов, Б.К. Годнеева, О.М. Оленкина, Л.В. Оленина

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Москва, 123182, Россия; e-mail: adashev.vladimir@gmail.com

Мы изучали роль DEAD-бок содержащей РНК хеликазы Belle (DDX3) в сперматогенезе *D. melanogaster*. DEAD-бок содержащие РНК хеликазы участвуют во всех аспектах метаболизма клеточных РНК. DDX3 участвует в широком круге онкологических процессов у различных организмов, включая человека. Мы обнаружили, что на фоне RNAi-нокдауна Belle в соматических клетках семенников *D. melanogaster* в последних образуются опухолеподобные кластеры из мелких герминальных клеток, не вступающих в дальнейшую дифференцировку и экспрессирующих маркеры стволовых клеток. Также герминальные клетки в составе кластеров имеют спектросомы — структуры, характерные для герминальных стволовых клеток. Формирование таких кластеров сопровождается нарушением адгезионных кон-

тактов между соматическими и герминальными клетками, в норме формирующими цисты, функциональные единицы сперматогенеза. Мы показали, что эктопическая экспрессия в семенниках белка клеточной адгезии бета-интегрин на фоне RNAi-нокдауна Belle приводит к значительному восстановлению ранних стадий сперматогенеза. Для идентификации мишеней трансляционной регуляции, осуществляемой Belle в семенниках, мы получили и просеквенировали CLIP-Seq библиотеки. В процессе анализа и картирования полученных библиотек с использованием геномной сборки *D. melanogaster* dm6 (браузер UCSC) нами были предсказаны около 60 РНК-мишеней Belle. На основе полученных данных нами была построена сеть взаимодействий (GO анализ), вследствие чего мы полагаем, что Belle участвует в таких процессах, как деаденирование мРНК, протеолиз белков, ядерный транспорт и других. В ближайшее время мы планируем подтвердить найденные мишени независимыми методами.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-04-00546 А.

ГЕНОМНЫЙ И ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

В.Э. Акимов^{1,2}, В.Г. Дмитриева¹, Л.В. Дергунова¹, А.В. Хрунин¹

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182, Россия;

²Институт биологии и химии ФГБОУВО МПГУ, Москва, Россия; e-mail: vaso-akim@yandex.ru

Болезнь Альцгеймера (БА) — это нейродегенеративное заболевание, сопровождающееся массовой гибелью нейронов и постепенным снижением когнитивных функций, со временем приводящее к деменции. Хотя БА можно выявить прижизненно по содержанию в цереброспинальной жидкости бета-амилоида и тау-белка, диагностика болезни на ранних стадиях остается проблематичной, поскольку клинические проявления возникают только через несколько лет после начала необратимых патологических изменений в мозге. Основное внимание исследователей направлено на поиск генетических маркеров БА. В полногеномных ассоциативных исследованиях (GWAS) было выявлено более 20 локусов, полиморфизм которых был ассоциирован с риском развития БА. Однако функциональный вклад многих из них в патогенез заболевания остается неясным ввиду их соотношенности с богатыми генами регионами и сцепленности с большим количеством других полиморфных локусов, а также с отсутствием оценки изменения функций белков, кодируемых ассоциированными с этими полиморфизмами генами. Основываясь на данных GWAS, нами выявлен пул из 198 генов, потенциально ассоциированных с процессами, сопровождающими развитие БА. Помимо генов, для которых ассоциация с риском развития БА уже является установленной, в него во-

шли гены, расположенные вблизи полиморфизмов, сцепленных ($r2 \geq 0,2$) с «каноническими» 21 полиморфными локусами. Для выяснения их функциональной значимости в патогенезе БА из этого пула генов с помощью базы данных DAVID были отобраны 62 гена, демонстрировавшие ассоциации с неврологическими, метаболическими и иммунными заболеваниями. Мы предполагаем, что прижизненное исследование изменения функции отобранных генов с помощью сравнительного анализа уровня экспрессии мРНК в клетках крови пациентов с БА и контрольной группы позволит не только установить патогенетическую значимость отдельных полиморфизмов, но и в перспективе рассматривать их диагностическое применение в качестве маркеров БА.

* * *

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАРКЕРНОГО ГЕНА МАМК ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РАЗНООБРАЗИЯ МАГНИТОТАКТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ

Л.М. Алексеева^{1,2}, М.М. Узун^{1,2}, В.В. Козяева¹, М.В. Сухачева¹, Е.О. Патутина¹, Н.В. Слободова¹, А.С. Груздев¹

¹ФИЦ биотехнологии РАН, Москва, Россия, 119071;

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, 119991; e-mail: al.lolita96@gmail.com

Магнитотактические бактерии (МТБ) — группа прокариот, которая была обнаружена среди филумов *Proteobacteria*, *Nitrospirae*, *Omnitrophica*, *Planctomycetes*, *Latescibacteria*. Общим для них свойством является способность синтезировать внутриклеточные кристаллы магнетита или грейгита, окруженные липопротеиновой мембраной. Такие органеллы получили название магнетосомы. Однако синтез магнетосом не является таксономическим дескриптором, в связи с чем существуют трудности в обнаружении МТБ по последовательностям генов 16S рНК. В данной работе впервые была разработана праймерная система для идентификации МТБ в природных сообществах. В качестве универсального маркера был выбран ген, кодирующий актиноподобный белок MamK, отвечающий за упорядоченное расположение магнетосомной цепи в клетке. Было сконструировано 8 праймерных систем, из которых после оптимизации условий ПЦР было выбрано 2 праймерные системы для проведения Nested-PCR, показавшие достоверные результаты на чистых культурах рода *Magnetospirillum*. Кроме того, был проведен анализ биоразнообразия пресноводного озера Белое Бордюковское. Были проанализированы 576 клонов 16S рНК и *mamK*. Филогенетический анализ последовательностей генов *mamK* выявил 6 ОТЕ, относящихся к МТБ. Они принадлежали к филуму *Nitrospirae*, классу *Alphaproteobacteria*, семействам *Magnetosocassaceae* и *Syntrophaceae*. Анализ последовательностей генов 16S рНК показал схожие результаты.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 18-34-01005).

* * *

МОДЕЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ГЕНОВ В ГЕНОМ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ ВЫЗВАЛ АДАПТИВНЫЙ ОТВЕТ НА УРОВНЕ ЭКСПРЕССИИ ПЕРЕНЕСЕННЫХ ГЕНОВ И УСКОРЕННЫЙ ЛОКАЛЬНЫЙ МУТАГЕНЕЗ

О.В. Аликина¹, О.А. Глазунова¹, А.О. Сырочева^{1,2}, К.С. Шавкунов¹, О.Н. Озолин^{1,2}

¹ФГБУН Институт биофизики клетки Российской академии наук, Пушкино, 142290, Россия;

²Пушинский естественно-научный институт, Пушкино, 142290, Россия; e-mail: alikina.olga@mail.ru

Для изучения процесса адаптивной эволюции бактериальных геномов в ответ на интеграцию чужеродного генетического материала, более 3 лет назад был осуществлен модельный перенос генов в геном кишечной палочки (*Escherichia coli* MG1655) и начат эволюционный эксперимент. Для переноса были использованы гены *sfmA* и *fumD* *Salmonella enterica* Turphimurium 14028S, кодирующие адгезин и фумаразу 6, соответственно. Они были интегрированы в геном кишечной палочки вместо ранее ассимилированных генов, предположительно полученных ею от сальмонелл. Ожидалось, что повторное введение предковых форм в то же генетическое окружение запустит такой же процесс адаптивной эволюции, который ранее привел к подавлению транскрипционной активности модельных генов. Вместо этого мы обнаружили медленные волнообразные изменения в экспрессии перенесенных генов, которые в случае мутанта с заменой *sfmA* имеют тенденцию к затуханию, а у мутанта с заменой *fumD* на рубеже ~7000 генераций возникла первая фиксированная мутация, которая, по-видимому, стала причиной резкого усиления экспрессии и опережающего роста этого мутанта в условиях совместного культивирования с родительским штаммом. Так как расчетное время ее появления в результате случайного мутагенеза должно было быть гораздо более продолжительным, это может свидетельствовать об ускоренном локальном мутагенезе. Как и ожидалось, у обоих мутантов в рекомбинантной области наблюдается повышенная частота спонтанных замен GC-пар на AT-пары, которые на популяционном уровне приближают их нуклеотидные последовательности к A/T-богатому контексту ранее ассимилированных генов.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01570 и РФФИ мол_а 18-34 01006.

* * *

ФЕНОТИПИРОВАНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК КАРДИОМИОБЛАСТОВ КРЫСЫ Н9С2 С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ

А.А. Андреева, Э.Ц. Барадиева, С.И. Шрам

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия, 123098; e-mail: a.andreeva@img.ras.ru

Линия кардиомиобластов крысы Н9с2 широко используется при моделировании различных кардиопатологий в культуре клеток. Известно, что клетки Н9с2 в процессе дифференцировки, в зависимости от целого ряда факторов, могут приобретать признаки не только кардиомиоцитов, но и миоцитов скелетных мышц. Цель данной работы — предло-

жить четкие критерии для фенотипирования клеток H9c2 по признакам, характеризующим степень и направленность дифференцировки в сердечные/скелетные миоциты. В качестве таких признаков предложено использовать: а) содержание маркерных белков — тропонинов Т сердца (сTnT) и скелетных мышц (sTnT); и б) число ядер в клетке. Было проведено сравнение нескольких штаммов H9c2, полученных из разных пулов клеток, хранящихся в криобанке. Морфологический анализ, проведенный через 10 сут культивирования в среде с 1% FBS (условие для стимуляции дифференцировки), показал, что число многоядерных клеток (миотрубок) варьировало в пределах 20—40%. С использованием дифференциального анализа сTnT/sTnT (иммунофлуоресцентная микроскопия) было обнаружено, что в культурах преобладают сTnT(+)/sTnT(+) клетки (50—60%). Доля отрицательных по обоим TnT клеток составляла 30—40%, число сTnT(+)/sTnT(–) клеток было незначительным, а сTnT(–)/sTnT(+) клетки были обнаружены только в одном из проанализированных штаммов, где их содержание не превышало 10%. При этом структурированное распределение маркерных белков, характерное для цитоскелетных и сократительных белков, наблюдали только в культурах сTnT(–)/sTnT(+) клеток. Предложенный подход будет использован нами для подбора оптимальных условий дифференцировки клеток H9c2 в миоциты сердечного типа.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 16-04-01870).

ПОЛУЧЕНИЕ ХРОСОМОСПЕЦИФИЧНЫХ БИБЛИОТЕК БЫСТРОЙ ЯЩУРКИ, *EREMIAS VELOX* (СЕМЕЙСТВО НАСТОЯЩИЕ ЯЩЕРИЦЫ)

Д.А. Андреюшкова¹, А.П. Лисачев²,
В.А. Трифионов^{1,3}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия, 630090;

²Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, 630090;

³Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия, 630090; e-mail: ada@mcb.nsc.ru

Представители современных рептилий имеют различные системы определения пола, как правило, возникшие в эволюции независимо друг от друга. В связи с этим исследование половых хромосом внутри разных групп рептилий является важным для изучения возникновения и эволюции механизмов, лежащих в основе детерминации пола. Семейство Настоящие ящерицы (Lacertidae) имеет ZZ/ZW-систему определения пола, однако происхождение половых хромосом данной группы в настоящее время не выяснено окончательно. В рамках данной работы с помощью микродиссекции метафазных хромосом был получен набор хромосомспецифичных библиотек быстрой ящурки (*Eremias velox*), в том числе, W-хромосомы. Флуоресцентные зонды, созданные на основе данных библиотек, будут использованы в дальнейших исследованиях кариотипа данного вида, в частности, в изучении его половых хромосом. Впоследствии полученные библиотеки будут секвенированы на платформе MiSeq Illumina и исследованы биоинформатически.

Поддержано грантом РФФИ 18-34-00182.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ АКТИВАЦИИ НАПРАВЛЕННОЙ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕПАРАЦИИ ЧЕРЕЗ TUDOR-ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИЙ РЕГУЛЯТОР TIRR

А.А. Анучина¹, А.В. Лавров^{1,2}, С.А. Смирнихина¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия; e-mail: arinate@mail.ru

В 2017 г. были открыты уникальные свойства ранее не охарактеризованного белка TIRR (Tudor-interacting repair regulator), кодируемого геном *NUDT16L*. Был показан не только значительный вклад TIRR в выбор пути репарации двунитевых разрывов, но и ранее неизвестный механизм взаимодействия с ключевым игроком негомологичного соединения концов — белком 53BP1. TIRR является первым и пока единственным белком, способным маскироваться под гистоновую метку и вступать в прямую конкуренцию с хроматином за связывание с Tudor-доменом белка 53BP1. Образование подобного комплекса удерживает 53BP1 от связывания с местами двунитевых разрывов, содержащими специфический гистоновый мотив H4K20me2. Кроме того, независимые эксперименты установили взаимосвязь эффективности гомологичной репарации с изменением экспрессии TIRR-транскрипта гена *NUDT16L*, что примечательно, как в положительную, так и в отрицательную сторону. Существует гипотеза о существовании некоего конститутивного уровня белка, любое изменение которого оказывает на негомологичное соединение концов ингибирующий эффект. Предполагается, что TIRR может быть использован для повышения эффективности направленной гомологичной репарации при геномном редактировании с использованием CRISPR-Cas9-системы. Однако подобных экспериментов до настоящего времени не проводилось. Исследование направлено на разработку и оптимизацию методики повышения эффективности гомологичной репарации путем влияния на экспрессию гена *NUDT16L* с помощью ряда механизмов. Первым является нокдаун гена *NUDT16L* с помощью малых интерферирующих РНК в клеточной культуре НЕК293Т. Вместе с siRNA в клетки трансфицируют плазмиду с мутантным геном *GFP*, плазмиду, содержащую ген Cas9-нуклеазы и соответствующую sgRNA к целевому гену и одноцепочечный олигонуклеотид как матрицу для репарации. Вторым подходом является оверэкспрессия TIRR-транскрипта гена *NUDT16L* путем конструирования и введения в клетки экспрессирующей плазмиды с кодирующей последовательностью, соответствующей изучаемому белку.

НОВЫЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БЕЛКА DR5-B V114C НА ОСНОВЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЦИТОКИНА TRAIL

А.А. Артыков^{1,2}, А.В. Яголович^{1,2}, М.Э. Гаспарян¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997, Россия;

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 117992, Москва, Россия; e-mail: art.al.artykov@gmail.com

Ранее были созданы рецептор-селективный вариант TRAIL DR5-B, который селективно связывается с рецептором смерти DR5, не проявляя аффинности к другим рецепторам цитокина (DR4, DcR1, DcR2, OPG), а также мутантный вариант TRAIL DR5-B V114C с мутацией V114C на N-конце полипептидной цепи для ковалентной конъюгации белка с малеимидными группами различных соединений. Также ранее был описан способ получения вариантов цитокина TRAIL путем экспрессии в штамме *E. coli* BL21(DE3) в виде гибридного белка с тиоредоксином. Этот способ позволял получить препаративные количества растворимого белка, однако качество очистки не удовлетворяло требованиям, предъявляемым к лекарственным препаратам. В данной работе был получен новый плазмидный вектор pET-32a/dr5-b-v114c, который не содержит Trx-, His- и S-тагов и служит для прямой экспрессии целевого белка DR5-B V114C. Вектор pET-32a/dr5-b-v114c был трансформирован в высокопроизводительный штамм *E. coli* SHuffle V. Целевой белок DR5-B V114C был очищен из растворимой фракции цитоплазматических белков. Благодаря комбинированию аффинной хроматографии на сорбентах Ni-NTA и Pierce High Capacity Endotoxin Removal Resin и ионообменной хроматографии на сорбенте SP Sepharose удалось повысить степень очистки от низкомолекулярных белковых примесей и бактериальных эндотоксинов, а также сократить количество стадий очистки. Препарат DR5-B V114C, полученный новым способом, эффективно индуцировал апоптоз в линиях опухолевых клеток Т-клеточной лейкемии Jurkat и колоректальной карциномы HCT116.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-34-00812.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ШТАММА «МОСКВА» РЕОВИРУСА НА ОСНОВЕ ПЦР С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

А.В. Астапенко, Ю.И. Амму, Е.Б. Файзулов

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, 115088, Россия, Москва; e-mail: ekzis666@mail.ru

В настоящем исследовании был разработан чувствительный и воспроизводимый метод количественного определения специфической активности реовируса штамма «Москва» на основе ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (ПЦР-РВ), как альтернатива классическим методам. Разработанный подход станет ценным инструментом в целях количественного определения инфекционной активности реовирусов, применяемых в качестве онколитических агентов. К консервативному участку генома реовируса штамма «Москва» были подобраны праймеры и зонд, специфичность которых была показана в ПЦР-РВ и подтверждена методом электрофореза в агарозном геле. Культуру клеток МА-

104 инкубировали с серийными разведениями исследуемых вирусосодержащих образцов в присутствии трипсина, необходимого для активации вируса, или контрольным препаратом с известным титром в течение 24 ч, после чего культуру клеток лизировали и выделяли вирусную РНК. Титр вируса в образцах оценивали по отношению к контрольному образцу. С целью достижения максимальной чувствительности теста, условия проведения ПЦР-РВ были оптимизированы по концентрации праймеров в реакционной смеси и температуре отжига. В сравнении с реакцией цитопатического действия данный подход позволял количественно оценить вирус в короткий срок, а также был менее трудоемок в работе, в то время как полученные средние значения и отклонения были сопоставимы.

СРАВНЕНИЕ ЭТИОЛОГИИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ

М. Ахмедзянова

Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Россия; e-mail: margarita.axmedzyanova@mail.ru

Основной задачей работы являлось изучение этиологии возникновения рака прямой кишки и рака молочной железы и выявление наличия общих закономерностей. BRCA1 и BRCA2 — гены-супрессоры опухолевого роста, относятся к так называемой группе генов «общего контроля» (ОК). При наличии мутации гена BRCA1 повышается риск возникновения рака молочной железы, при мутации гена BRCA2 — рака яичников. Наличие клинически значимых мутаций в генах BRCA1 или BRCA2 вызывает потерю функции белков, кодируемых этими генами, в результате чего нарушается основной механизм репарации двунитевых разрывов ДНК. Альтернативные пути репарации (BER, NHEJ) не способны полностью исключить накопление большого числа ошибок в первичной структуре ДНК (геномная нестабильность). Мутации гена-супрессора аденоматозного полиппоза толстой кишки (adenomatous polyposis coli, APC) ведут к разрастанию полипов толстой кишки в раннем возрасте. Соматическая мутация ведет к активации онкогена *ras* и ускорению роста полипа, который, тем не менее, еще остается доброкачественным. Однако с годами полип может приобрести мутации генов-супрессоров DCC и TP53, которые ведут к автономному неконтролируемому росту злокачественных клеток рака толстой кишки. Мини-опрос, проведенный в группе из 30 человек, показал, что каждый из респондентов знает о таких заболеваниях, как рак молочной железы и рак прямой кишки; 85% не знают о том, что именно мутация генов способна привести к таким последствиям, и лишь 15% респондентов ответили, что слышали ранее об этом. Однако результаты исследований американских ученых, в которых принимали участие 7015 женщин, показали, что женщины, имеющие мутации генов RCBA1 и RCBA2, кроме высокого риска развития рака молочной железы и яичников, имеют высокий риск развития других типов рака, к примеру, рака прямой кишки. Таким образом, огромную роль в возникновении рака молочной железы (рака яичников) и рака прямой кишки играет генетический фактор. А именно наличие мутации определенных генов.

УЧАСТИЕ РІРНК-САЙЛЕНСИНГА В МЕЖВИДОВОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ ИЗОЛЯЦИИ У *DROSOPHILA*

С.С. Базылев¹, В.Е. Адашев¹, Б.К. Годнеева¹,
А.А. Котов¹, А.А. Аравин^{1,2}, Л.В. Оленина¹

¹Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Москва, 123182, Россия;

²Калифорнийский технологический институт, Пасадена, США; e-mail: bazylevser@gmail.com

рiРНК путь — эволюционно консервативный механизм, обеспечивающий поддержание стабильности генома за счет подавления активности транспозонов. Активность рiРНК системы также направлена на репрессию некоторых белок-кодирующих генов. В герминальных клетках самцов *D. melanogaster* рiРНК, образующиеся с локуса *Su(Ste)*, участвуют в подавлении экспрессии генов *Stellate*, что необходимо для нормального сперматогенеза и поддержания фертильности. Мы обнаружили 26 X-сцепленных геномных повторов, специфичных только для *D. melanogaster*, имеющих высокое сходство с последовательностью гена *vasa* и названных нами *Varel* (*vasa related*) повторами. С помощью FISH обнаружено, что экспрессия *Varel* ограничена стадией ранних сперматоцитов. Анализ библиотек малых РНК показал, что в герминальных клетках самцов с локуса *Varel* образуется большое количество рiРНК, антисмысловых по отношению к мРНК гена *vasa*, то есть повторы *Varel*, также как и *Su(Ste)*, являются мощными рiРНК кластерами. Однако, в отличие от подавления экспрессии *Stellate*, экспрессия гена *vasa* у *D. melanogaster* не подавляется в гонадах из-за недостаточной комплементарности *Varel* рiРНК. *Varel* рiРНК могут супрессировать *vasa* *D. mauritiana* в семенниках межвидовых гибридов за счет более высокой комплементарности. Отсутствие локуса *Su(Ste)* в семенниках гибридов с полноценным герминальным контентом приводит к дерепрессии *Stellate* и стерильности. Таким образом, рiРНК путь вносит вклад в репродуктивную изоляцию *D. melanogaster* с помощью нарушения регуляции двух различных белок-кодирующих генов.

Работа поддержана грантом министерства образования и науки Российской Федерации №14.W03.31.0007.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФОРМЫ ТРОМБОФИЛИИ — ВОЗМОЖНЫЙ МАРКЕР ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ У ЖЕНЩИН В КЛИМАКТЕРИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ

Е.А. Бахчеван, О.В. Борисова

Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, Одесса, 119121, Украина; e-mail: oljachum@gmail.com

В рандомизированных исследованиях было выявлено увеличение риска венозных тромбозов в 2–4 раза при применении заместительной гормональной терапии (ЗГТ). Одной из наиболее изученных генетических форм тромбофилии является полиморфизм фактора V G1691A (Лейденская мутация). В результате этой мутации образуется вариант фактора V (FV Leiden), устойчивый к расщеплению под действием АПС и сохраняющий, таким образом, свою активность. Таким образом, изучение частоты поли-

морфизма гена FV Leiden в украинской популяции является актуальной задачей для разработки алгоритма обследования пациенток при отборе для ЗГТ. Цель нашей работы — изучение частоты полиморфизма G1691A (Arg506Gln) гена FV (Leiden). ДНК выделяли из проб буккального эпителия по методу Делапорта. В группу вошли образцы ДНК 250 женщин, имеющих семейную историю тромботических осложнений и/или репродуктивные проблемы (бесплодие, невынашивание беременности в анамнезе). Согласно результатам исследования, частота варианта G/G составила 58,6%, G/A 39,8%, A/A 1,6%. Таким образом, высокая встречаемость полиморфного варианта гена FV, его доказанная роль в повышении риска тромботических осложнений и простота анализа делают его удобным маркером для включения в обследование пациенток перед ЗГТ.

ВЛИЯНИЕ МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА РАСПРОСТРАНЕНИЕ ФИТОПЛАЗМЫ У ТОМАТОВ

А.Г. Бахшиев

Институт генетики, физиологии и защиты растений, Кишинев, Республика Молдова; e-mail: aighiuni93@mail.ru

Фитоплазма является широко распространенным микроорганизмом, который поражает более 700 видов растений. Среди них много экономически важных культур, таких как томат, кукуруза, картофель, виноград и др. Потери от фитоплазмоза могут составлять до 70–80% от урожайности. Основными переносчиками фитоплазмы являются цикадки. Отсутствие клеточной стенки делает невозможным культивирование фитоплазмы *in vitro*, что существенно затрудняет идентификацию патогена. Однако, благодаря развитию молекулярных методов, точная диагностика данного фитопатогена стала возможной. Основную цель данной работы составляло определение влияния метеорологических условий на распространение фитоплазмы на томатном поле. Молекулярная диагностика проводилась на томатах сортов Elvira и Cerasus в периоды вегетации 2016 и 2017 г. ДНК была выделена из плодоножек томатов с помощью щелочного экспресс-метода, разработанного Guo и др. (2003). Для вложенного ПЦР-анализа использовались специфические праймеры *srp421 F/R* и *srp200 F/R*, созданные на основе нуклеотидной последовательности гена *chaperonin* *Candidatus phytoplasma solani*. Погодные условия 2016 и 2017 г. существенно отличались. Летом 2016 г. были зарегистрированы высокие температурные показатели и сравнительно мало осадков. При анализе сводных данных на присутствие фитопатогена было определено заражение в 92% проанализированных образцов. Летом 2017 г. были отмечены сравнительно низкие температурные показатели и более высокий уровень осадков. Процент зараженных томатов был значительно ниже, всего около 42%. Эти результаты показывают, что большое количество осадков повлияло отрицательно на распространение и размножение цикадок, а более низкие температуры снижали их активность, вследствие чего процент зараженных растений (томатов) понизился.

ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА АДДИКТИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ НА ПРИМЕРЕ КУРЕНИЯ

В.В. Башинская^{1,2}, А.К. Коляда^{1,2}, Е.В. Мурланова^{1,2}, Ю.Г. Борисович³, О.А. Загородняя³, Н.Р. Дарвишов³, В.В. Мосейко^{1,2}, Д.П. Осичанская⁴, А.М. Вайсерман¹

¹ГУ «Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины», Киев, Украина;

²Генетическая лаборатория, ООО «Diagen», Киев, Украина;

³КНУ им. Тараса Шевченко, Киев, Украина;

⁴Реабилитационный центр «Медлюкс», Киев, Украина; e-mail: vitalina.bashinskaya@gmail.com

Аdditивное поведение часто проявляется в виде непреодолимого влечения к употреблению психоактивных веществ, включая табак. Выявление генетических факторов риска курения и предрасполагающих к аддикции психологических черт необходимо для развития персонализированных подходов к терапии. 167 добровольцев (средний возраст 32,6±9,6 года) заполнили опросники, включающие шкалу импульсивности Баррата и краткую шкалу зависимости от сигарет (CDS-5), и сдали образцы буккального эпителия для выделения ДНК. Генотипирование по SNP в генах *DRD2*, *HTR2A*, *CYP2A6*, *COMT*, *GABRA2* и *CHRNA5* проводилось методами ПЦР. Частоты носительства аллелей/генотипов/аллельных комбинаций в группах курящих и некурящих, а также людей с высокими (>75 баллов) и нормальными (до 70 баллов) показателями импульсивности сравнивали с помощью ПО APSampler, использующего MCMC метод и Байесовскую непараметрическую статистику. Не выявлено индивидуальных аллелей/генотипов, ассоциированных с исследуемыми фенотипами, однако выявлены сочетания, включающие аллели исследуемых SNP генов *HTR2A*, *COMT* и *GABRA2*, значимо чаще наблюдаемые в группах курильщиков и людей с высокой импульсивностью. Набор исследуемых продолжается. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении полиморфизма генов *HTR2A*, *COMT* и *GABRA2* в формирование аддиктивного поведения.

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА -786 T>C ГЕНА NOS3 С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ У ПОЖИЛЫХ МУЖЧИН

Н.А. Бебякова, А.А. Куба, А.В. Хромова

ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Архангельск, Россия; e-mail: nbebyakova@mail.ru

В ранее проведенных исследованиях была выявлена ассоциация генотипа CC полиморфизма -786T>C гена *NOS3* с факторами риска развития гипертензии у юношей, проживающих в условиях Арктической зоны РФ. У юношей с генотипом CC чаще наблюдалась гипертоническая реакция на физическую нагрузку ($p<0,05$), выявлен более высокий периферический тонус сосудов ($p<0,05$) и в 2 раза более высокий уровень эндотелина-1, чем у юношей с генотипом СТ и ТТ. В данное исследование были включены 156 мужчин (средний возраст 71,4 года, 95% ДИ 68,6—74,1)

постоянно проживающих в условиях Арктической зоны РФ, из них 83 — с артериальной гипертензией (АГ) и 73 — без данного диагноза. Методом ПЦР определялись генотипы по полиморфизму -786T>C гена *NOS3*. Метод логистической регрессии использовался для выявления ассоциации гипертензии с генотипом по изучаемому полиморфизму. Обнаружены преобладание аллеля С и генотипа С/С и более редкая встречаемость аллеля Т среди пожилых мужчин с АГ по сравнению с контрольной группой без АГ. Поиск генетической модели показал, что наиболее правдоподобно описывает результаты генотипирования полиморфного варианта -786T>C гена *NOS3* аддитивная модель (ТТ-ТС-СС, OR 0,54 (95% ДИ: 0,85—2,8), $p=0,012$, согласно которой, каждая копия аллеля С повышает риск развития АГ у пожилых мужчин. Таким образом, у пожилых мужчин вклад в формирование гипертензии вносит не только генотип СС, но и аллель С полиморфного варианта -786T>C гена *NOS3*.

ВЫЯВЛЕНИЕ ПРИЧИНЫ МУТАНТНОГО ФЕНОТИПА МЫШЕЙ WELLHAARIG (WE)

А.К. Бейлин^{1,2}, Э.С. Чермных^{1,2}, Д.М. Шепетов¹, Е.А. Воротеяк^{1,2,3}

¹ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; e-mail: arkadii.beilin@gmail.com

Фенотипически рецессивная мутация *wellhaarig* (*we*) у мышей проявляется волнистым шерстяным покровом и волнистыми и короткими вибриссами. Ген *we* был картирован на хромосоме 2, его положение известно до локуса сцепления размером один миллион п.н. Из всех генов, картированных на этом участке, только эпидермальная трансглутаминаза 3 (*Tgm3*) экспрессируется в коже и волосяных фолликулах, поэтому и была предложена в качестве кандидата на роль нормального аллеля мутантного гена *we*. В ходе настоящей работы мы обнаружили и установили тип мутации гена *Tgm3* у наших мутантных мышей *we*. Для этого мы провели секвенирование экзонов гена *Tgm3*. Ген *Tgm3* содержит 13 экзонов, мы проверили 5 экзонов, в которых ожидали обнаружить мутацию, исходя из данных литературы. Секвенирование экзонов позволило обнаружить нонсенс-мутацию ДНК в 13 экзоне у мутантной мыши *we*; замена цитозина на тимин приводит к появлению преждевременного стоп-кодона ТГА (вместо аргининового кодона ЦГА) и укорачивает белковый продукт *Tgm3* на 36 аминокислот. Мутантные мыши *wellhaarig* (*we*), которые несут мутацию в гене *Tgm3*, могут послужить ценной моделью для исследования роли *Tgm3* в развитии и функционировании эпидермиса и волосяных фолликулов, и заслуживают дальнейших исследований.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-01022.

СОЗДАНИЕ ХИМЕРНОЙ ЭНДОГЛЮКАНАЗЫ II, СОДЕРЖАЩЕЙ ЦЕЛЛЮЛОЗОСВЯЗЫВАЮЩИЙ ДОМЕН, В ШТАММЕ *PENICILLIUM CANESCENS*, И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ПРОДУКТА

Н.М. Бибиков, М.В. Семенова, Е.А. Рубцова, О.Г. Короткова

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, 119071, Россия; e-mail: bibik0808@mail.ru

Целлюлозосвязывающий домен (ЦСД) присутствует у многих целлюлолитических ферментов и обеспечивает их адсорбцию на нерастворимом субстрате. Одним из таких ферментов является целлюлогидролаза I (ЦБГ I) *Penicillium verruculosum*, имеющая высокую способность к адсорбции на поверхности субстрата. ЦБГ I осуществляет расщепление волокон целлюлозы с образованием димера — целлобиозы. К ферментам, не имеющим ЦСД, относится эндоглюканаза II (ЭГ II) *P. verruculosum*. Этот фермент осуществляет статистическое расщепление волокон аморфной целлюлозы по 1,4-β-связям с образованием олигосахаридов. Таким образом, целью данной работы стало получение химерной конструкции: эндоглюканазы II, содержащей целлюлозосвязывающий домен, и изучение свойств продукта. В ходе работы была получена генетическая конструкция, состоящая из гена ЭГ II *P. verruculosum* (*eglII*) и участка гена ЦБГ I *P. verruculosum* B1, кодирующего ЦСД (*cbhI^{cbd}*). Оба гена были амплифицированы, а затем соединены с использованием линкерных праймеров. Конструкция была клонирована в компетентных клетках *E. coli* MACH1 и трансформирована в штамм-реципиент *Penicillium canescens* RN3-11-7, подходящий для исследования гетерогенных целлюлаз. Клоны, содержащие химерную конструкцию, были использованы для получения сухого ферментного препарата, из которого хроматографическими методами был выделен чистый химерный белок. Свойства химерного белка были исследованы в сравнении с чистой ЭГ II. По сравнению с чистой ЭГ II, химерный белок имеет адсорбцию на 60% выше, а также в 14 раз более высокую гидролитическую активность по отношению к нерастворимому субстрату. Кроме того, изменился качественный состав продуктов гидролиза в пользу целлобиозы с 12 до 45% продуктов.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АНЕУПЛОИДНЫХ ГИБРИДОВ С ЗАМЕЩЕНИЯМИ ОТДЕЛЬНЫХ ХРОМОСОМ ИЛИ ИХ ПЛЕЧ С ПОМОЩЬЮ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Ш.У. Бобохужаев¹, Ш.С. Абдукаримов², А.Х. Макамов², М.Ф. Санамьян¹

¹Национальный университет Узбекистана, Ташкент, Республика Узбекистан;

²Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Республика Узбекистан; e-mail: bobohujayev@mail.ru

Хлопчатник (*Gossypium hirsutum* L., 2n=52) является наиболее широко культивируемым видом среди пяти ранее изученных тетраплоидных видов. В последние годы были описаны два новых вида тетраплоидного хлопчатника: *G. ekmanianum* Wittm. (Grover и соавт., 2015) и *G. stephensii*

(Gallagher и соавт., 2017). При скрещивании моносомных и монотелодисомных линий Цитогенетической коллекции НУУз, созданных на основе линии Л-458, с линией Pima 3-79 вида *G. barbadense* L. были получены анеуплоидные гибриды с замещениями отдельных хромосом или их плеч. Цитогенетический анализ гибридных растений F₁ выявил присутствие семи моносомных растений в двух семьях (Мо34х3-79 и Мо95х3-79) с унивалентом крупного размера. В одной комбинации скрещиваний (Telo-12х3-79) было обнаружено два монотелодисомника с формированием 25 нормальных и одного гетероморфного бивалента. Для идентификации и нумерации моносом проводили скрещивания анеуплоидных линий с транслокационными линиями с пронумерованными хромосомами. При анализе гибридов с участием моносомной линии Мо95 была установлена гомологичность унивалента этой линии с одной из транслоцированных хромосом, поскольку у моносомных гибридов в метафазе I мейоза наблюдалось 24 бивалента плюс один тривалент. Поскольку у транслокационной линии в транслокацию была вовлечена хромосома 6, предположили, что унивалентная хромосома Мо95 является хромосомой 6 At-субгенома хлопчатника. Анализ межвидовых гибридов F₁ (Мо34×3-79, Мо95×3-79 и Telo-12х3-79) выявил присутствие только аллелей *G. barbadense*, тогда как аллели линии Л-458 отсутствовали, что продемонстрировало локализацию 8 маркеров (BNL1064, BNL2884, GH39, GH82, TMB1538, TBM0154, TBM1538, TBM1484) на изучаемых моносомных и монотелодисомном гибридах. Поскольку ранее эти маркеры были картированы на хромосоме 6 At-субгенома хлопчатника, можно утверждать, что линии цитогенетической коллекции — Мо34, Мо95 и Telo-12 являются дубликатами с отсутствием хромосомы 6 At-субгенома.

Работа выполнена при финансовой поддержке Комитета по науке и технологиям и Министерства инноваций Республики Узбекистан (гранты Ф-5-31 и ОТ-А-КХ-2018-379).

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УРОВНЕЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНЫХ СОРТОВ И ДИКОРАСТУЩИХ ПОПУЛЯЦИЙ *BRASSICA NAPUS*

М.В. Богданова, А.А. Буракова, А.И. Царь, Н.Е. Хоружий, В.И. Сакович, В.А. Лемеш

Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь; e-mail: m.bogdanova@igc.by

При оценке рисков воздействия генетически модифицированных организмов на окружающую среду большое внимание уделяется сохранению биологического разнообразия, в частности дикорастущих популяций сельскохозяйственных культур. Известны многочисленные дикорастущие популяции масличного рапса (*Brassica napus*), однако генетически они малоизучены. Для исследования генетического разнообразия и происхождения дикорастущих популяций рапса в Беларуси мы сравнили показатели полиморфизма 14 микросателлитных локусов у 11 диких популяций и 30 коммерческих сортов.

В целом коммерческие сорта и дикорастущие популяции продемонстрировали сходные уровни генетического полиморфизма. Рассчитанные значения ожидаемой и наблюда-

даемой гетерозиготности были несколько выше (значения статистически не достоверны) среди дикорастущих популяций по сравнению с культурными сортами, однако две группы имели менее 50% общих аллелей. По результатам AMOVA, доля изменчивости, которая приходится на различия между группами (коммерческие сорта: дикорастущие популяции), составляла почти 16% ($F_{ST}=0,159$). При попарном сравнении сортов и дикорастущих популяций уровни генетической дифференциации варьировали от умеренных до очень высоких ($F_{ST}=0,234—0,750$). Программное обеспечение STRUCTURE также продемонстрировало четкое разделение между коммерческими сортами и дикорастущими популяциями: из 25 идентифицированных генетических кластеров только один включал растения как коммерческого сорта, так и дикорастущей популяции. Результаты свидетельствуют о том, что генетически рапс способен поддерживать стойкие дикорастущие популяции. Дикорастущие популяции могли образоваться из более старых сортов, которые не были включены в наш анализ или, возможно, являются результатом гибридизации с дикими родственными видами. В связи с этим дикорастущие популяции должны учитываться при оценке экологического риска при вживлении трансгенного рапса в окружающую среду.

БЛОК POLDIP2 СТИМУЛИРУЕТ ДНК-ПОЛИМЕРАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ PRIMPOL ЧЕЛОВЕКА

Е.О. Болдинова, А.В. Макарова

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182, Россия; e-mail: lizaboldinova@yandex.ru

PrimPol — это открытая в 2013 г. ДНК-праймаза/полимераза человека, играющая важную роль в преодолении нерепарированных повреждений ДНК в процессе репликации. PrimPol может осуществлять реинициацию синтеза ДНК после поврежденного участка, используя ДНК-праймазную активность, а также может напрямую включать нуклеотиды напротив повреждений ДНК благодаря ДНК-полимеразной активности. PrimPol не взаимодействует с PCNA, и механизмы регуляции ее активности еще недостаточно изучены. Одним из главных направлений исследования PrimPol является поиск вспомогательных белков, регулирующих ее работу. Было показано, что ядерная изоформа белка PolDIP2 (белок 2, взаимодействующий с ДНК-полимеразой δ) значительно стимулирует ДНК-полимеразную активность PrimPol. Наибольший стимулирующий эффект наблюдается при воздействии PolDIP2 с рекомбинантной PrimPol, содержащей GST-таг. ДНК-полимеразная активность препаратов PrimPol с отрезанным GST-тагом стимулируется белком PolDIP2 в меньшей степени. Можно предположить, что регуляция активности PrimPol происходит путем димеризации фермента на ДНК-матрице, при этом белок PolDIP2 оказывает стимулирующее действие, а рекомбинантный GST-таг может способствовать димеризации PrimPol. Взаимодействие PrimPol с белком PolDIP2 также было подтверждено успешным выделением комплекса PrimPol-PolDIP2 при экспрессии обоих белков в клетках *E. coli*. Также было обнаружено, что помимо PrimPol белок PolDIP2 оказывает стимулирующее действие на другие ДНК-полимеразы Y- и X-семейств.

Исследование поддержано грантом РФФИ 18-14-00354 (по PrimPol) и РФФИ-комфи 17-00-00264 (по остальным ДНКП).

ПОЛУЧЕНИЕ АПТАМЕРОВ К PRIMPOL

К.А. Бондаренко, А.В. Макарова

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182, Россия; e-mail: amakarova-img@yandex.ru

Действие многих современных химиотерапевтических препаратов основано на блокировании репликации быстро делящихся опухолевых клеток с помощью повреждения ДНК. ДНК-праймаза и ДНК-полимераза человека PrimPol осуществляют реинициацию репликации после повреждений ДНК, в том числе после цисплатиновых сшивок, и являются перспективной мишенью для создания препаратов для борьбы с химиотерапевтической резистентностью. Аптамеры представляют собой небольшие олигонуклеотидные молекулы, отобранные из библиотек случайных последовательностей ДНК и РНК и образующие прочные комплексы с молекулами-мишенями. Связываясь в функционально важных участках молекулы, аптамеры эффективно ингибируют активность многих белков-мишеней. По специфичности и аффинности аптамеры не уступают антителам, но обладают низкой иммуногенностью. С помощью систематической эволюции лигандов экспоненциальным обогащением (SELEX — «Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment») были получены ДНК-аптамеры к PrimPol человека. После 13 циклов отбора ДНК-аптамеры были клонированы, и для 24 клонов была определена нуклеотидная последовательность. По нуклеотидному составу вариативной области полученные аптамеры можно разделить на несколько групп, содержащих 4 основных типа консервативных мотивов. Для всех полученных аптамеров характерна структура G-квадруплекса, что может быть связано как с более высокой стабильностью этой структуры *in vitro*, так и с высокой аффинностью PrimPol к G-квадруплексам.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-04-00777.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА: ЧАСТОТА И АССОЦИАЦИЯ С БИОХИМИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

О.В. Борисова, Е.А. Бахчеван

Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, Одесса, 119121, Украина; e-mail: oljachum@gmail.com

Цель нашей работы — определение частот полиморфизмов генов *MTHFR* (677C>T, 1298A>C), *MTR* (2756A>G), *MTRR* (с.66A>G) в группе детей (51 человек) с расстройствами аутистического спектра, а также оценить влияние данных полиморфизмов на уровень витаминов B₉, B₁₂ и фолатов в плазме крови. Частоты полиморфизмов по указанным генам составили: *MTHFR* (677C>T): AA 51%, Aa 45%, aa 3,9%; *MTHFR* (1298A>C): AA 45%, Aa 33%, aa 22%; *MTR* (2756A>G): AA 0,59, Aa 33%, aa 8%; *MTRR* (с.66A>G): AA 40%, Aa 49%, aa 11%. Частоты аллелей по данным генам: *MTHFR* (677C>T): p(A)=0,74, q(a)=0,26; *MTHFR*

(1298A>C): $p(A)=0,62$, $q(a)=0,38$, MTR (2756A>G): $p(A)=0,76$, $q(a)=0,24$; $MTRR$ (с.66A>G): $p(A)=0,65$, $q(a)=0,35$. Частоты полиморфизмов данных генов в группе детей с расстройствами аутистического спектра не отличались от частот полиморфизмов в европейской популяции. Была выявлена ассоциация носительства двух неблагоприятных аллелей гена $MTRR$ (с.66A>G) с уровнем В12 плазмы крови. У детей с расстройствами аутистического спектра, имеющих aa форму гена $MTRR$ (с.66A>G), наблюдалось достоверное снижение уровня V_{12} по сравнению с AA или Aa варианта гена ($OR=4,2$, $p<0,05$). Достоверной ассоциации аллельных вариантов генов фолатного цикла и уровня гомоцистеина плазмы крови у группы детей с расстройствами аутистического спектра не было выявлено.

ЭВОЛЮЦИОННАЯ ДИНАМИКА ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ У ЧАСТИЧНО КЛОНАЛЬНЫХ ВИДОВ АКТИНИЙ

Е.С. Бочарова^{1,2}

¹ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, 119334, Россия;

²ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, 107140, Россия; e-mail: bocharova.ekaterina@gmail.com

Поскольку клонирование очень распространено среди разных видов актиний, образуется достаточно много клональных или частично клональных популяций актиний на краю ареала или в условиях, кардинально отличающихся от условий вероятного рефугиума вида. Наши исследования касаются популяций нескольких видов актиний, для двух из которых характерно циркумполярное распределение (*Aulactinia stella*, *Stomphia coccinea*), в то время как ареал других ограничен только Атлантикой (*Urticina crassicornis*, *U. felina*, *Cribrinopsis similis*) или только Пацификой (*C. olegi*, *C. albopunctata*). По последовательностям митохондриальной ДНК виды из родов *Urticina* и *Cribrinopsis* идентичны либо отличаются на одну замену, у циркумполярных видов в одной популяции могут существовать от 1 до 5 гаплотипов. Анализ последовательностей ядерных рибосомальных генов (18S и 28S рРНК) показал, что наибольшее генетическое разнообразие наблюдается у вида *U. felina*, который в своем жизненном цикле имеет внешнее оплодотворение и плавающую личинку. Наименьшее разнообразие по ядерным маркерам демонстрировали особи *A. stella*, которые в зоне наибольшего гаплотипического разнообразия по митохондриальным генам (5 гаплотипов) были представлены всего тремя ядерными генотипами. Это может свидетельствовать о том, что помимо нормального полового размножения в данной популяции Тихого океана стало происходить частичное клонирование, к которому этот вид полностью перешел в условиях Атлантики.

РОЛЬ ПИНЕАЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И МЕЛАТОНИНА В МЕХАНИЗМАХ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОГО ОТВЕТА У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Е.С. Брулер¹, С.Н. Сергина², Е.П. Антонова², А.В. Морозов²

¹ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, 185000, Россия;

²Институт биологии КарНЦ РАН, ФИЦ «Карельский научный центр РАН», Петрозаводск, 185910, Россия; e-mail: bruler.ekaterina@mail.ru

Реакция организма на изменение световых условий окружающей среды реализуется посредством изменения функционирования нейроэндокринного органа — пинеальной железы (ПЖ), которая осуществляет многочисленные модулирующие влияния на физиологические системы организма посредством своих гормонов, важнейшим из которых является мелатонин. В докладе собран материал об участии ПЖ и мелатонина в молекулярных и физиолого-биохимических механизмах фотопериодической регуляции физиологических функций у млекопитающих. Особое внимание уделяется вопросам, касающимся минерального состава, причин и механизмов формирования кальцинированных конкреций (*corpora arenacea*) в ПЖ.

Исследования выполнены на научном оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания карнц РАН (0221-2017-0052), а также при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект №18-34-00035 мол_а).

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОСТРЕЛОВ *PULSATILLA* В РЕСПУБЛИКЕ КОМИ

О.Е. Валуйских¹, А.В. Тетерюк¹, Я.И. Пылина¹, О.Е. Сушенцов², Д.М. Шадрин¹

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, ул. Коммунистическая, 28, Сыктывкар, Республика Коми, 167982, Россия;

²Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Свердловская область, 620002, Россия; e-mail: valuyskikh@ib.komisc.ru

На европейском северо-востоке России в пределах Республики Коми проходит зона перекрытия ареалов *Pulsatilla patens* (L.) Mill. и *P. flavescens* (Zucc.) Juz. (или *P. uralensis* (Zam.) Tzvel.). Наличие переходных форм (по окраске цветков, структуре листа), неоднородность популяций в регионе требуют ревизии рода *Pulsatilla*, в том числе молекулярно-генетическими методами. В качестве основного диагностического признака, используемого при разделении этих видов в уральских Красных книгах, является окраска лепестков: сине-фиолетовая у *P. patens* и светло-желтая у *P. flavescens*. Отметим, что *P. patens* s.l. включен в Красную книгу Республики Коми (2009). Для определения таксономического положения прострелов привлечен 31 образец растений из разных по составу популяций с территории Республики Коми, а также однородных популяций *P. patens* (Оренбургская область) и *P. flavescens* (Свердловская область). Молекулярно-филогенетический анализ проводился с использованием последовательностей хлоро-

пластных генов *matK* и *rbcL*, а также последовательностей ITS1-5.8s-ITS2 рДНК. Установлено, что все исследованные популяции представляют собой сложные гибридогенные комплексы двух видов рода *Pulsatilla*, которые разделились на группы по генам *rbcL* и *matK*.

Работа выполнена при поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований Уральского отделения Российской академии наук на 2018г., проект №АААА-А17-117121270031-2 (18-4-4-23) «Генетическое разнообразие редких видов Европейского Северо-Востока России: инвентаризация и прогноз устойчивости к глобальным изменениям климата».

* * *

РОЛЬ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SET7/9 В SAM68-ОПОСРЕДОВАННОЙ РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

Е.А. Василева, Т.С. Леонова, В.А. Мамонтова, П.А. Старшова, О.А. Федорова, А.А. Дакс, О.Ю. Шувалов, А.В. Петухов, Н.А. Барлев

Институт цитологии Российской Академии наук, Санкт-Петербург, 194064, Россия; e-mail: slkd-k@mail.ru

Белок Sam68 (SRC associated in mitosis of 68 kDa) относится к STAR-семейству РНК-связывающих белков. Показана роль Sam68 при раке толстой кишки, простаты, карциномах почки и пищевода, раке мочевого пузыря, раке шейки матки и груди. Известно, что Sam68 является регулятором клеточного цикла и апоптоза. В частности, нокаут Sam68 приводит к удлинению G2-М фазы клеточного цикла. Несмотря на важную роль Sam68 в канцерогенезе, посттрансляционная регуляция этого белка еще недостаточно хорошо изучена. Нами было показано, что лизиновая метилтрансфераза Set7/9 специфично метилирует РНК-связывающий белок Sam68. Методом проточной цитофлуориметрии мы показали, что метилтрансфераза Set7/9 вовлечена в Sam68-опосредованную регуляцию клеточного цикла. Сверхэкспрессия Sam68 в клетках рака толстой кишки НСТ116 приводила к существенному укорочению G2-М фазы клеточного цикла, в то время как в отсутствие Set7/9 в раковых клетках НСТ116 Sam68 не оказывал влияния на продолжительность G2-М. В частности, наличие метилтрансферазы Set7/9 необходимо для Sam68-опосредованной репрессии циклинов D1 и E. Полученные нами данные позволяют рассматривать низкий уровень экспрессии метилтрансферазы Set7/9 как негативный прогностический маркер для пациентов с раком толстой кишки и высоким уровнем экспрессии Sam68.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-315-00408 мол_а.

* * *

РЕГУЛЯЦИЯ РАДИОУСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТОК С ПОМОЩЬЮ ТЕХНОЛОГИИ CRISPR

И.О. Велегжанинов^{1,2}, Я.И. Пылина¹, Д.М. Шадрин¹, Е.С. Белых¹, А.В. Рыбак¹

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, 167982, Россия;

²Политехнический институт, Вятский государственный университет, Киров, 610000, Россия; e-mail: vellio@yandex.ru

Развитие технологий мультиплексной регуляции экспрессией генов CRISPRa и CRISPRi в совокупности с на-

коплением знаний о функциях генов и их взаимодействиях открывает новые возможности для управления свойствами клеток и организмов. В частности, для управления устойчивостью к генотоксическому стрессу. Фундаментальные знания о регуляции клеточной стрессоустойчивости могут лечь в основу подходов к снижению рисков возникновения онкологических заболеваний и увеличению эффективности их лечения. Кроме того, такие знания нужны для создания более долговечных клеток-продуцентов рекомбинантных белков, новых сортов растений и пород животных. С помощью белка dCas9, связанного с активатором транскрипции VPR, мы выполнили раздельную и одновременную сверхэкспрессию генов XPC и HR23B в клетках НЕК293Т. Продукты данных генов образуют основу комплекса распознавания повреждений ДНК. Кроме того, мы осуществили сверхэкспрессию гена репликации и репарации RPA1 отдельно и одновременно с XPC и HR23B. Трансфецированные клетки тестировали на предмет устойчивости к гамма-излучению. Сверхэкспрессия XPC или HR23B отдельно не приводила к изменению радиоустойчивости. В то же время одновременная сверхэкспрессия данных функционально взаимосвязанных генов приводила к увеличению выживаемости клеток после облучения. Сверхэкспрессия RPA1, как отдельно, так и одновременно с XPC и HR23B приводила к увеличению радиоустойчивости. Наши результаты демонстрируют высокий потенциал мультиплексной сверхэкспрессии генов стресс-ответа в функционально обоснованных комбинациях для увеличения радиоустойчивости клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ: МК-2929.2017.4

* * *

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ТРАНСПОРТА АМИНОКИСЛОТ И МЕТАБОЛИЗМА МЕТАНОЛА У ДРОЖЖЕЙ *PICHA PASTORIS*

А.А. Волков, А.М. Румянцев

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: volkov.art.andr@gmail.com

Метилотрофные дрожжи *Pichia pastoris* широко используются в современной биотехнологии для синтеза рекомбинантных белков. При этом применяются промоторы генов метаболизма метанола, в частности гена алкогольоксидазы 1 (*AOX1*). В связи с этим большой практический интерес вызывает изучение механизмов регуляции этих генов. Было показано, что помимо регуляции активности гена *AOX1* источником углерода (например глицерином и метанолом), существует отдельный механизм его репрессии при наличии пролина в среде. Цель данной работы — конструирование репортерной системы, которая позволит исследовать влияние транспорта пролина на регуляцию экспрессии генов метаболизма метанола у *P. pastoris*. На первом этапе с помощью биоинформатического анализа в геноме *P. Pastoris* были выявлены 2 гена, предположительно кодирующие специфические пермеазы пролина. Далее кодирующую последовательность одного из них — *PpPUT4* встроили в состав плазмиды *pPIC9-Pcup1* под контроль регулируемого промотора гена *CUP1*. Этой плазмидой трансформировали штамм GS115 дрожжей *P. pastoris*. На втором этапе работы полученные штаммы трансформировали

плазмидой, содержащей репортерный ген кислой фосфатазы *PHO5* под контролем промотора гена *AOX1*. Полученный таким образом штамм позволяет измерять активность промотора гена *AOX1* на фоне сверхэкспрессии гена, кодирующего специфическую пермеазу пролина *PpPUT4*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-34-00750 мол-а.

ЭКСПРЕССИЯ ХИМЕРНОЙ ПОЛИСАХАРИДМОНООКСИГЕНАЗЫ С ПРИСОЕДИНЕННЫМ ЦЕЛЛЮЛОЗОСВЯЗЫВАЮЩИМ МОДУЛЕМ В ШТАММЕ-РЕЦИПИЕНТЕ *PENICILLIUM VERRUCULOSUM*

П.В. Волков¹, Ю.А. Денисенко¹, А.М. Рожкова^{1,2}, А.П. Сеницын^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии», Институт биохимии им. А.Н. РАН, Москва, 119071, Россия;

²Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991, Россия; e-mail: pvvolkov@mail.ru

Известно, что классическая схема ферментативного гидролиза целлюлозы предполагает участие трех ключевых целлюлаз: целлюбиогидролазы (ЦБГ), эндоглюканазы (ЭГ) и β -глюкозидазы (БГ). Однако 10 лет назад были открыты новые белки негидролитической природы — полисахаридмонооксигеназы (ПМО), осуществляющие окислительный разрыв полимерной цепи целлюлозы, разрыхляя тем самым ее связи и облегчая доступ гидролитического комплекса к полимеру. В лаборатории биотехнологии ферментов активно ведутся работы с реципиентным штаммом В1-537 аскомицета *P.verruculosum*, способного секретировать до 50 г/л белка на стандартной среде культивирования с целлюлозой. В гДНК *P.verruculosum* удалось обнаружить ген *pto*, кодирующий гомологичную ПМО. В последовательности белка обнаружен консервативный домен, характерный для известных грибных ПМО, относящихся к 61-й семье гликозид-гидролаз. Однако в структуре белка отсутствует целлюлозосвязывающий домен (ЦСМ), необходимый для адсорбции ПМО на целлюлозе, что должно приводить к увеличению гидролитической способности ферментных препаратов и, как следствие, повышению эффективности гидролиза целлюлозы. Методами геной инженерии ген *pto* был состыкован с полинуклеотидной последовательностью, кодирующей ЦСМ целлюбиогидролазы I *P.verruculosum*. Таким образом, была получена плазмидная конструкция, содержащая химерную конструкцию *pto+cbd* под контролем сильного *cbhI* промотора. Конструкция *pto-cbd* будет экспрессирована в штамме-реципиенте *P.verruculosum* В1-537. Полученный химерный белок ПМО-ЦСМ будет использован для получения высокоэффективных оптимизированных ферментных комплексов для конвейерной целлюлозосодержащего сырья.

Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН №33 «Углеродная энергетика: химические аспекты».

ВЫДЕЛЕНИЕ ПОЛНОРАЗМЕРНОГО РЕПЛИКАТИВНОГО РЕГУЛЯТОРНОГО ФАКТОРА POLDIP2

Д.И. Гагаринская, Е.О. Болдинова, А.В. Макарова

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182, Россия; e-mail: deanaw@yandex.ru

Полноразмерная форма многофункционального регуляторного белка PolDIP2 (42 кДа) стимулирует активность ряда ДНК-полимераз (PrimPol, Pol λ , Pol η), увеличивая их сродство к ДНК. Функциональное взаимодействие ДНК-полимераз с PolDIP2 повышает эффективность и точность синтеза на ДНК-матрицах со многими типами повреждений ДНК. Изучение PolDIP2 осложнено низкой стабильностью белка и сложностью его выделения. На основе штамма *E. coli* Rosetta2 были получены продуценты белка PolDIP2, слитого на N-конце с 6xHIS и GST-тагом. Клетки растили в 6 л среды LB при 30 °C до достижения OD=0,4, наработку белка осуществляли при 16 °C в течение 12–14 ч. Выделение PolDIP2 с N-концевым 6xHIS-тагом проводили с помощью металл-хелатной хроматографии на сорбенте Ni-NTA, а с N-концевым GST-тагом — с помощью аффинной хроматографии на сорбенте глутатион-сефароза. Выход белка и чистота препарата PolDIP2 с GST-тагом были намного выше по сравнению с препаратом PolDIP2, слитым с HIS-тагом. С помощью масс-спектрометрии было показано, что препараты PolDIP2 содержат протеолизированный фрагмент фермента, доля которого была выше в препарате PolDIP2, слитого с HIS-тагом.

Исследование поддержано грантом РФФИ 18-14-00354.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АСКОРБАТ-ГЛУТАТИОНОВОГО ЦИКЛА В ЗЕЛЕНЕЮЩЕМ ЛИСТЕ ПШЕНИЦЫ

Е.В. Гармаш, И.О. Вележанинов, Е.В. Силина, О.А. Кузванова, К.В. Ермолина, Т.К. Головкин

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, 167982, Россия, ул. Коммунистическая, д. 28; e-mail: garmash@ib.komisc.ru

Аскорбат-глутатионовый цикл (АГЦ) — метаболический путь детоксификации H_2O_2 в растениях. В работе исследовано функционирование АГЦ в процессе деэтиоляции листа яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L., с. Иргина) на непрерывном свете ($190 \mu\text{моль м}^{-2} \text{с}^{-1}$) в течение 48 ч. Выявлен дифференциальный характер экспрессии генов, в основном совпадающий с активностью ферментов АГЦ, направленный на поддержание уровня восстановленного аскорбата (Asc) и глутатиона (GSH). Усиление экспрессии гена аскорбатпероксидазы (*t-APX*) и активности APX, восстанавливающей H_2O_2 с использованием Asc, сопровождалось увеличением количества Asc. После 24 ч деэтиоляции уровень экспрессии гена и активность APX снизились, а содержание Asc продолжало увеличиваться. Этому способствовало усиление экспрессии гена и активности дегидроаскорбатредуктазы (DHAR), регенерирующей Asc из его окисленной формы. Экспрессия гена и активность глутатионредуктазы, восстанавливающей окисленный глутатион (GSSG), снижались после 24 ч, а концентрация GSSG — увеличилась. Следовательно, можно полагать, что реге-

нерация Asc в АГЦ — не единственный путь пополнения его пула, как и окисление глутатиона дегидроаскорбатредуктазой. Вероятно, что транзиторное усиление экспрессии гена монодегидроаскорбатредуктазы (MDAR) обусловлено повышенным образованием MDA-радикала при переносе этиолированных проростков на свет. Благодаря эффективному функционированию АГЦ поддерживается стабильный уровень H_2O_2 в зеленеющем листе, что способствует оптимизации условий для становления фотосинтетического аппарата.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-04-0076 А и темы НИР, номер ГР ААА-А-А17-117033010038-7.

* * *

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ ВСТРЕЧАЕМОСТИ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *UGTA1*, *DPYD*, *GSTP1* И *ABCBI* В ПОПУЛЯЦИИ ВОСТОЧНЫХ СЛАВЯН

Р.Н. Гейдаров¹, С.В. Титов¹, А.Ю. Попов², В.М. Михайлович¹

¹ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарта Российской академии наук, Москва, Россия; ²Городская клиническая больница имени Д.Д. Плетнева Департамента здравоохранения Москвы, 105077, Москва, Россия; e-mail: rustam.heydarov@gmail.com

Продукты генов *UGTA1*, *DPYD*, *GSTP1* отвечают за метаболизм различных субстратов как эндогенного происхождения, так и ксенобиотиков, в том числе, противоопухолевых препаратов. Уридиндифосфат-глюкурозилтрансфераза (*UGTA1*) участвует в дезактивации метаболитов иринотекана, дигидропиримидин-дегидрогеназа (*DPYD*) — фторурацила, глутатион S-трансфераза P1 (*GSTP1*) — производных платины. Ген *ABCBI* кодирует Р-гликопротеин из группы АТР-связывающих транспортных белков и участвует в модуляции фармакокинетики ряда лекарственных средств. Известны полиморфизмы этих генов, влияющие на активность их продуктов. Наиболее значимыми считаются rs8175347 (*UGTA1*)-вставка двух нуклеотидов ТА, препятствующая связыванию с промотером фактора транскрипции TFIIID, снижает экспрессию гена до 70%; rs3918290 (*DPYD*) — однонуклеотидная замена (G->A) в донорном сайте сплайсинга, приводящая к полной потере ферментативной активности; rs1695 (*GSTP1*) — замена (A>G), снижающая активность фермента; rs1045642 (*ABCBI*) — замена (C>T), снижающая экспрессию гена. На разработанном ранее биочипе мы провели анализ 149 образцов ДНК резидентов европейской части РФ. Частоты минорных аллелей полиморфизмов rs8175347, rs3918290, rs1695 и rs1045642 составили 0,37; 0, 0,38 и 0,56, соответственно.

Работа выполнена за счет средств Российского научного фонда (проект №16-15-00257).

* * *

ИЗУЧЕНИЕ АМИЛОИДОГЕННОГО БЕЛКА РНСЗ НА КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ НЕК293

Е.М. Герасимова¹, Д.В. Качкин¹, А. Зелинский¹, А.А. Рубель¹, Ю.О. Чернов^{1,2}

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

²Georgia Institute of Technology, Atlanta, USA; e-mail: kantellis@mail.ru

Ряд нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, хорея Гентингтона и другие, которые объединяются под общим термином «амилоидозы», обусловлены нарушением белкового обмена, сопровождающимся образованием и отложением в тканях специфического комплекса — амилоида. Амилоиды — это белковые агрегаты фибриллярной природы, формирующие межмолекулярные кросс-β-структуры и способные катализировать присоединение к себе мономерных молекул того же белка с изменением их нормальной конформации. На сегодняшний день наблюдается повышенный интерес к амилоидам, которые могут выполнять определенные функции в организме. В ходе ранее проведенных работ в лаборатории Биологии Амилоидов благодаря биоинформатическим методам и дрожжевой модели был идентифицирован новый амилоидный белок млекопитающих — РНСЗ. РНСЗ является одним из белков поликомбгруппы (PcG) — комплекса белков, необходимых для поддержания репрессивного состояния многих генов, включая Нох-гены, функционирующие во время развития организма. Данная работа направлена на изучение амилоидных свойств белка РНСЗ в системе клеточных культур человека НЕК293, а также изучение влияния агрегации этого белка на паттерн экспрессии генов в изучаемой культуре клеток.

Работа выполнена при поддержке СПбГУ и грантов РФ №14-50-00069 и РФФИ №15-04-08159.

* * *

ПОИСК МУТАЦИЙ В ХРОМОСОМНОЙ ОБЛАСТИ 17P13 У БОЛЬНЫХ МЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Г.Ф. Гималова¹, З.С. Абдуллин², Д.Д. Сакаева², Э.К. Хуснутдинова¹

¹Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, 450054, Уфа, Россия;

²Республиканский клинический онкологический диспансер, 450054, Уфа, Россия; e-mail: galiyagimalova@gmail.com

Рак легкого (РЛ) является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний и основной причиной смертности от них во всем мире. Мелкоклеточный рак легкого (МРЛ) составляет 15—20% всех случаев РЛ и характеризуется коротким анамнезом, быстрым течением, имеет тенденцию к раннему метастазированию. Полногеномные исследования МРЛ показали практически 100% частоту мутирования гена TP53. Нами проведен поиск мутаций в данном гене и

всей хромосомной области 17p13.1 у больных МРЛ из Республики Башкортостан. Материалами для исследования послужили 72 образца тканей, фиксированных в формалине и залитых в парафин. Поиск мутаций осуществлялся методом мультиплексной лигазозависимой амплификации (МЛРА). В результате исследования у 11 образцов выявлены гетерозиготные дупликации в первом экзоне гена TP53 и у одного — во втором, четвертом, седьмом и десятом экзонах. Большинство же образцов имели делеции в локусе 17p13: пять — в седьмом экзоне гена MPUD1 и первом экзоне гена ATR1B2, четыре — в четвертом—шестом экзонах гена TP53, три — во втором экзоне гена TP53 и седьмом экзоне гена ATR1B2 и один — в 13-м экзоне гена СНЕК2. Кроме того, обнаружено 4 образца с мутацией с.1100delC гена СНЕК2, ассоциированной с развитием рака молочной железы, яичников и простаты. Полученные результаты в целом согласуются с литературными данными, свидетельствующими о высокой частоте мутирования гена TP53 у больных МРЛ.

Работа частично поддержана грантом РФФИ №17-020115.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЯЩЕРИЦ *DAREVSKIA ARMENIACA*, АССИМИЛИРОВАННЫХ В НОВЫХ УСЛОВИЯХ ОБИТАНИЯ

А.Е. Гирнык¹, И.Б. Доценко², А.А. Вергун^{1,3}

¹ФГБУН Институт биологии гена РАН, 119334, Москва, Россия;

²Национальный Научно-природоведческий музей НАН Украины, 01601, Киев, Украина;

³ФГБОУ ВО «Московский педагогический государственный университет» (МПГУ), 119991, Москва, Россия; e-mail: nasstenochka@mail.ru

Эксперимент по искусственной интродукции скальных ящериц *D. armeniaca* из Закавказья в Житомирскую область Украины был начат И.С. Даревским и Н.Н. Щербаном в 1963 г. За более чем 50 лет акклиматизации перемещенная популяция *D. armeniaca* стала обладать более высокой численностью и плотностью, чем в местах естественного обитания в Армении, а также приобрела некоторые биологические различия. Отмечено, что плодовитость самок украинской популяции выше, а размножение начинается на 2 недели раньше, чем в исходной армянской популяции. В этой связи особый интерес связан с генетическими исследованиями интродуцированной популяции. В настоящей работе было проведено микросателлитное генотипирование 40 особей украинской популяции. Были выявлены и секвенированы 12 аллельных вариантов четырех локусов, отличающихся по структуре микросателлитного кластера и однонуклеотидным вариациям в прилежащих к микросателлиту областях. По сочетанию аллелей четырех локусов установлены индивидуальные генотипы для всех особей. Всего было детектировано 7 генотипов, в том числе относительно мажорные и редкие. Некоторые генотипы не были обнаружены в исходной и других армянских популяциях *D. armeniaca*. Однако говорить о появлении новых генотипов в украинской популяции пока рано, поскольку необходимо провести сравнение с исходной армянской популяцией, используя равные по количеству особей выборки.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ №№17-04-00396, 17-00-00430 (17-00-00426).

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА *NEF* ВИЧ-1 СУБ-СУБТИПА А6 В СРАВНЕНИИ С СУБ-СУБТИПОМ А1 И СУБТИПОМ В

К.Б. Громов

ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098 Москва; e-mail: konstantinhiv@bk.ru

Цель настоящего исследования — филогенетический анализ гена *nef* ВИЧ-1 суб-субтипа А6 в сравнении с другими генетическими вариантами ВИЧ-1 — близкородственным суб-субтипом А1 и широко распространенным в мире субтипом В. Ранее было показано, что эти варианты различаются по последовательностям других генов, однако данных, касающихся гена *nef*, в литературе нет.

Материал и методы. Для анализа были получены 47 полногеномных последовательностей вирусов А6 с применением технологии секвенирования MiSeq («Illumina», США) и наборов MiSeq reagent kits V2. Также для анализа использовали 53 полногеномные последовательности вирусов суб-субтипа А6 ВИЧ-1, полученные из GenBank. Для проведения сравнительного филогенетического анализа было включено также по 100 последовательностей суб-субтипа А1 и субтипа В из GenBank. Для выравнивания последовательностей использовалась программа MEGA6.0 (<https://www.megasoftware.net>). Для филогенетического анализа была использована программа iqtree (<http://www.iqtree.org>).

Результаты. Проведенный нами филогенетический анализ последовательностей показал, что ген *nef* суб-субтипа А6 имеет существенные различия с геном *nef* суб-субтипа А1 и образует отдельный субкластер в составе кластера субтипа А. Последовательности субтипа В образуют отдельный кластер от последовательностей субтипов А.

Вывод. На основании проведенного сравнительного молекулярно-генетического и филогенетического анализа исследования было показано, что геномы ВИЧ-1 суб-субтипа А6, суб-субтипа А1 и субтипа В различаются по последовательности гена, кодирующего белок Nef.

ЭКСПРЕССИЯ ГОМОЛОГИЧНОЙ ПОЛИСАХАРИДМОНООКСИГЕНАЗЫ В ШТАММЕ-РЕЦИПИЕНТЕ *PENICILLIUM VERRUCULOSUM* В1-537

Ю.А. Денисенко¹, П.В. Волков¹, Д.О. Осипов¹, М.В. Семенова¹, А.М. Рожкова^{1,2}, О.Г. Короткова¹, А.П. Синицын^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, 119071, Россия;

²Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, 119991; e-mail: denisenkoyura@mail.ru

Полисахаридмонооксигеназа (ПМО) — фермент, который не обладает гидролитической активностью, однако окисляет в произвольных местах кристаллические участки целлюлозы, образует свободные концы, которые являются

ся субстратом для действия целлюлогидролаза (ЦБГ), и увеличивает аморфность целлюлозы. Штамм мицелиального гриба *Penicillium verruculosum* является основным объектом систематического исследования в Лаборатории биотехнологии ферментов ФИЦ Биотехнологии РАН. В геноме штамма гриба *P. verruculosum* был обнаружен набор полинуклеотидных последовательностей, при трансляции которых выявляется высокая степень гомологии с ПМО из других грибных штаммов: *Penicillium occitanis* (95%) и *Talaromyces celluloliticus* (91%). Таким образом, ген *pmo*, размером 1043 п.н., кодирующий ПМО из *P. Verruculosum*, был клонирован и секвенирован по методу Сэнгера. ПЦР-продукт, соответствующий гомологичному гену *pmo*, был лигирован в шаттл-вектор pUC-SVNI под контролем сильного индуцибельного *cbhI* промотора. В результате трансформации в штамм-реципиент *P. verruculosum* В1-537 и культивировании полученных рекомбинантных штаммов-продуцентов гомологичного белка ПМО, на электрофореграммах наблюдалась полоса с видимой молекулярной массой 33 кДа, что приблизительно соответствовало теоретически рассчитанной молекулярной массе нового белка. Проведение масс-спектрометрического анализа позволило подтвердить экспрессию ПМО. ПМО *P. verruculosum* состоит из 328 а.к. и содержит консервативную область размером 217 а.к., наличие которой позволяет отнести новую ПМО к 61-й семье гликозидгидролаз, к которой относят ПМО из других грибных источников.

Работа выполнена при поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН №33 «Углеродная энергетика: химические аспекты».

* * *

ПРИМЕНЕНИЕ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ В АНАЛИЗЕ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОГО ЭФФЕКТА ПЕПТИДНОГО ПРЕПАРАТА СЕМАКС В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИ ОБРАТИМОЙ ФОКАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА У КРЫС

**А.Е. Денисова¹, И.Б. Филиппенков²,
В.В. Ставчанский², Л.В. Дергунова^{1,2}, Л.В. Губский¹**

¹ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, Москва, 117997, Россия;

²ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182, Россия; e-mail: dalina543@gmail.com

Проблема сосудистых заболеваний головного мозга, в том числе ишемического инсульта, сохраняет медицинскую и социальную значимость вследствие высоких показателей заболеваемости, инвалидизации и смертности населения. Семакс является одним из первых пептидных препаратов, успешно используемых для лечения инсульта, однако механизмы его действия остаются недостаточно изученными. В данной работе с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) было изучено влияние семакса на локализацию и объем ишемического повреждения в условиях модели обратимой ишемии мозга крыс (tMCAO). Анализ проводили с помощью диффузионно- и T2-взвешенных изображений (DWI и T2 WI) спустя 3 и 24 ч после внутрисосудистой окклюзии (90 мин) правой средней мозговой артерии. По данным МРТ, после tMCAO зона ишемии локализовалась в области подкорковых структур моз-

га со стороны окклюзии или распространялась на кору. Наиболее заметное увеличение объема ишемического повреждения было выявлено спустя сутки после tMCAO: из 29 животных, получавших физиологический раствор (ФР), 11 крыс имели очаг, значительно распространившийся в область коры. При введении семакса у крыс с зоной ишемии, включавшей кору, отмечалось значительно меньшее увеличение ее размеров по сравнению с животными, получавшими ФР. Так, через 24 ч после tMCAO по данным DWI и T2 WI у животных, получавших ФР, размер зоны повреждения (мм³) составил 178,2 [119; 201,7] и 142,5 [91,7; 173,1] соответственно, тогда как при введении семакса — 66,1 [57,3; 92,9] и 56,8 [53,6; 74,6]. Результаты указывают на возможную активацию защитных механизмов клеток мозга при ишемии, обусловленных нейропротективным действием семакса.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №16-14-00077.

* * *

ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ДЕГИДРИНОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Т.М. Дмитриева, П.В. Кузмишкая, О.Ю. Урбанович

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, 220072, Республика Беларусь; e-mail: t.dmitrieva@igc.by

Дегидрины представляют собой белки позднего эмбриогенеза второй группы (LEA II), для которых характерен консервативный домен (K-сегмент). Абиотический стресс (засоление, засуха, холод) вызывает повышение уровня экспрессии генов, кодирующих эти протеины. Была показана положительная связь между накоплением некоторых дегидринов и устойчивостью растений к низким температурам. Цель работы — изучение полиморфизма генов дегидринов среди сортов и линий яровой и озимой пшеницы различного генетического происхождения. Нами было изучено аллельное разнообразие локусов *TaDHN2*, *TaDHN18*, *TaDHN19* и *TaDHN20* (по классификации Wang и соавт.) в коллекции из 41 сорта и линии яровой и озимой пшеницы, характеризующихся разной устойчивостью к холоду. В ходе исследования полиморфизм на уровне длин амплифицированных фрагментов не был выявлен ни для одного из описанных локусов. Были секвенированы последовательности гена *TaDHN19.3* из геномов 6 сортов пшеницы: Капылянка, Каравай, Сукцесс, Фантазия (удалось выделить два аллельных варианта гена) — озимые, Бонпэйн и Ростань — яровые. Анализ секвенированных последовательностей показал высокую степень их идентичности (98,23—100%). Были обнаружены точечные мутации в виде однонуклеотидных замен. Результаты *in silico* трансляции секвенированных локусов свидетельствовали об идентичности гипотетических белков у сортов Каравай, Капылянка, Сукцесс и одного из аллельных вариантов сорта Фантазия.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта БРФФИ Б17PM-054 и Б18P-166.

* * *

ЯДЕРНАЯ ЛАМИНА ОБЕСПЕЧИВАЕТ ПРАВИЛЬНУЮ ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ХРОМАТИНА В ИНТЕРФАЗНОМ ЯДРЕ

С.А. Доронин^{1*}, С.В. Ульянов^{2*}, Е.Е. Храмева^{3*},
С.В. Разин², Ю.Я. Шевелев¹

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия;

²Институт биологии гена РАН, Москва, Россия;

³Сколковский институт науки и технологий, Сколково, Россия;

*равный вклад; e-mail: semdornot@gmail.com

У многоклеточных организмов участки хромосом, находящиеся в ламина-ассоциированных доменах (ЛАДах), прикреплены к ядерной ламине — белковой сети, состоящей из ламин и ламин-ассоциированных белков. Однако вклад ядерной ламины в компактизацию ЛАДов и в поддержание глобальной архитектуры хромосом до сих пор остается неясен. Мы обнаружили, что деплация ламина Dm0 методом РНКи в клетках S2 дрозофилы вызывает удаление хроматина от ядерной оболочки, которое приводит к общему увеличению его плотности в ядре. Однако в отличие от клеток млекопитающих, при деплации ламин-B-рецептора при одновременном отсутствии ламина C в клетках S2 заметного смещения хроматина внутрь ядра не наблюдалось. Методом Hi-C были проанализированы изменения плотности хроматина в топологически-ассоциированных доменах (ТАДах) после деплации ламина Dm0 в клетках S2. Оказалось, что плотность хроматина в ТАДах, состоящих преимущественно из неактивного хроматина, уменьшается, в то время как в ТАДах с высокой долей активного хроматина, а также в меж-ТАДах плотность хроматина, наоборот, увеличивается. Декомпактизация хроматина в неактивных ТАДах была подтверждена методом двуцветной FISH с использованием зондов к противоположным концам одного из ТАДов. ChIP-seq анализ с антителами к H3-пан-ацетилированным гистонам и RNA-seq анализ транскрипции в клетках S2 на фоне деплации ламина Dm0 показали повышение уровня ацетилирования гистонов и усиление фоновой транскрипции генов в ЛАДах. Полученные результаты свидетельствуют о двойной функции ядерной ламины в поддержании геномной архитектуры. Связывание ТАДов с ядерной ламинной делает их более компактными, подавляя фоновую транскрипцию. В то же время связывание с ламинной приводит к уменьшению общей плотности хроматина в ядре из-за растягивания интерфазных хромосом на ядерной оболочке.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 16-14-10081.

ИССЛЕДОВАНИЕ КИНЕТИКИ ГИБРИДИЗАЦИИ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ ДНК МЕТОДОМ VFDM

Е.С. Дюдеева¹, Н.Н. Курусь², Ф.Н. Дульцев^{2,3},
А.А. Ломзов^{1,3}, Г.Ю. Шевелев^{1,3}, Д.В. Пышный¹

¹ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия;

²ФГБУН Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН Россия;

³Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия, e-mail: jenyadudeeva@gmail.com

Метод атомно-силовой спектроскопии (АСС) широко применяется для исследования стабильности двойных спиралей ДНК. Особенность экспериментов заключается в малом количестве информативных силовых кривых, вследствие чего необходимо проводить порядка нескольких сотен измерений. Одна из причин может заключаться в том, что для образования двойной спирали ДНК требуется более продолжительное время, чем время контакта зонда АСС с подложкой, составляющее около 0,1–2 с. В данной работе мы экспериментально определили время гибридизации, используя метод измерения вольт-частотной зависимости на кварцевом резонаторе (VFDM). Исследования проводили на модельных дуплексах ДНК, содержащих по 20 пар оснований. Дуплекс ON1/ON2 сформирован полностью комплекментарными олигонуклеотидами, а ON1/ON3 содержит одонуклеотидное несоответствие. На поверхности кварцевого резонатора ковалентно иммобилизовали олигонуклеотид ON1, а буферный раствор, содержащий один из олигонуклеотидов ON2 или ON3, вводили в жидкостную ячейку с размещенным в ней резонатором. Измерения проводили при постоянной амплитуде переменного напряжения, равной 0,2 В. При данном напряжении амплитуда колебаний кварцевого кристалла мало влияет на процесс гибридизации, а анализ интенсивности шумов на резонансной кривой позволяет изучить кинетику образования ДНК-дуплексов. Полученные кривые зависимости степени превращения от времени реакции свидетельствуют о том, что для полной гибридизации необходимо время около 300 с в случае дуплекса ON1/ON2 и около 400 с в случае ON1/ON3. Таким образом, продолжительность процесса гибридизации действительно может являться одним из факторов, обуславливающих малую информативность силовых измерений, проводимых методом АСС.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00320.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ И МЕМБРАННЫХ ГЛИКАНОВ ФЛОКУЛИРУЮЩИХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ P. AZOSPIRILLUM

С.С. Евстигнеева, Ю.П. Федоненко

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, 410049, Россия; e-mail: Stels20295@yandex.ru

Диазотрофные бактерии *p. Azospirillum* обитают в ризосфере многих важных сельскохозяйственных культур. К адаптационным реакциям, которые помогают азоспириллам выживать при варьировании условий среды, относится образование флокул. Феномен флокуляции заключается в том, что данная форма организации помимо своей защитной функции является наиболее перспективной для инокуляции растений. Исследование формирования флокул имеет первостепенное значение для оптимизации применения данных ризобактерий в составе биопрепаратов. При этом важно уделить внимание структурным особенностям экзополисахаридов (ЭПС), полисахаридов капсулы (КПС) и липополисахаридов внешней мембраны (ЛПС), которые участвуют в растительно-микробном взаимодействии на молекулярном уровне. Нами проводилось изучение структуры и свойств ЭПС, КПС и ЛПС флоку-

лирующих культур азоспирилл, полученных при изменении состава питательной среды и фазы роста. Показано, что в составе данных гликанов при переходе бактерий от планктонных культур к образованию флокул происходят модификации моносахаридного состава, профиля жирных кислот и макромолекулярной организации. Такие результаты помогут выявить необходимый симбиотический фенотип *Azospirillum* для повышения эффективности использования биоудобрений на их основе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 18-34-00089).

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ БАШКИР, ТАТАР И ЧУВАШЕЙ ПО ДАННЫМ ОБ ИЗМЕНЧИВОСТИ Y-ХРОМОСОМЫ

**Н.В. Екомасова^{1,2}, С.С. Литвинов¹,
М.А. Джаубермезов², Л.Р. Габидулина²,
Р.И. Хусаинова¹, Э.К. Хуснутдинова^{1,2}**

¹Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, 450054, Россия;

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Уфа, 450076, Россия; e-mail: trofimova_nata@mail.ru

Материалом для исследования служили образцы ДНК чувашей ($n=43$), 2 субпопуляций татар ($n=103$) и 8 субпопуляций башкир ($n=483$). Было выявлено, что доминирующей линией гаплогруппы R1a-M198 Y-хромосомы в субпопуляциях абзелиловских башкир (16,5%), башкир Западного Оренбуржья (36,4%), башкир Самарской и Саратовской областей (44%), Бурзянского (27,5%) и Баймакского (6,1%) районов Башкирии является гаплогруппа R1a-Z2123. Необходимо отметить, что в других изученных популяциях — чувашей и татар — эта гаплогруппа встречается в единичных случаях, 2,3 и 2% соответственно. В субпопуляциях баймакских башкир (77,3%), бурзянских башкир (32,5%), башкир Западного Оренбуржья (22,7%), башкир Саратовской и Самарской областей (18%) гаплогруппа R1b-Z2105 является доминирующей линией R1b-M269. При этом R1b-M412 с максимально высокой частотой наблюдается в субпопуляции пермских башкир — 77,8%. Во всех других изученных популяциях R1b-M412 обнаружена в единичных случаях.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №17-44-020748 p_a.

ВЛИЯНИЕ ЛЕВЗЕИ САФЛОРОВИДНОЙ (*RHAPONTICUM CARTHAMOIDES*) НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

В.С. Елизарова, М.О. Астрейко, Н.А. Бебякова

ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Архангельск, 163000, Россия; e-mail: nika-elizarova@yandex.ru

Левзея сафлоровидная (*Rhaponticum carthamoides*) — травянистое растение, обладающее антистрессовой и

адаптогенной активностью. Цель работы — выявить влияние левзеи сафлоровидной на поведенческие характеристики крыс в условиях иммобилизационного стресса. В течение двух недель контрольную группу животных поили водой, опытную — отваром листьев левзеи сафлоровидной. Особенности поведения оценивали в тесте «Открытое поле», иммобилизационный стресс без жесткой фиксации проводили в течение 1 ч. До запаивания обе группы характеризовались одинаковыми депрессивными поведенческими реакциями на стресс, которые проявлялись в снижении индекса поведенческой активности (ИПА), увеличении периодов короткого груминга. После запаивания у крыс контрольной группы ИПА до и после стресса не менялся, однако уровень тревожности повышался. Крысы опытной серии в тесте вели себе более спокойно. После действия стресса наблюдалась активация поведения: большинство крыс доходило до центра поля, периоды короткого груминга были незначительны, уровень тревожности невысокий. Выводы: было установлено влияние левзеи сафлоровидной на стресс-обусловленные изменения поведения крыс. Действие левзеи приводит к адаптации животных к условиям стресса. Они легче и спокойно его воспринимают. И в итоге стресс оказывает возбуждающее влияние на их активность.

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ RS6277 И RS2283265 ГЕНА *DRD2* С ФЕНОТИПИЧЕСКИМИ ВАРИАЦИЯМИ В УРОВНЕ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ТРЕВОЖНОСТИ

Р.Ф. Еникеева, А.В. Казанцева, Э.К. Хуснутдинова

Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, 450054, Россия; e-mail: enikeevarf@gmail.com

Трудности в обучении математике могут быть обусловлены наличием математической тревожности (МТ), характеризующей чувством тревоги и страха при решении математических задач. На сегодняшний день существует большое количество литературных данных подтверждающих ассоциацию гена рецептора дофамина 2-го типа (*DRD2*) как с познавательными способностями [Kellendonk и соавт., 2006], так и с тревожными состояниями [Haugen и соавт., 2010], что делает ген *DRD2* интересным с точки зрения изучения его в контексте МТ. Ген *DRD2* включает в себя большое количество однонуклеотидных полиморфизмов, в данной работе были проанализированы два из них — *rs6277* и *rs2283265*. В исследовании приняли участие 530 психически здоровых индивидов (русских, татар, башкир, удмуртов) (75% женщин) — студентов ВУЗов Уфы (средний возраст $21,5 \pm 3,87$ года), прошедшие оценку МТ с помощью опросника MARS-E. Генотипирование проводили с помощью ПЦР-ПДРФ. Статистический анализ был осуществлен с использованием программы Plink v.1.07. В результате линейного регрессионного анализа не было выявлено ассоциации полиморфных локусов гена *DRD2* (*rs6277* и *rs2283265*) с МТ. Однако последующий стратификационный анализ, проведенный среди мужчин, женщин, индивидов татарской, русской, башкирской, удмуртской и сме-

шанной этнической принадлежности, показал ассоциацию локуса rs2283265 в гене *DRD2* с МТ у мужчин ($p=0,03$, $r^2=0,04$).

Работа выполнена при поддержке грантов Российского гуманитарного научного фонда 17-16-02009 а(р).

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ОТДЕЛЬНЫХ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА AP-1 В РЕГУЛЯЦИИ ВАЖНЫХ ДЛЯ ПСОРИАЗА ХАРАКТЕРИСТИК КЕРАТИНОЦИТОВ

А.Н. Заварухина^{1,2}, А.Д. Золотаренко²

¹Лаборатория функциональной гномики, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова, Москва, 119991, Россия;

²Кафедра генетики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119234, Россия; e-mail: zavaruhinal@mail.ru

Семейство AP-1 является одним из основных регуляторов сигнальных каскадов, связанных с развитием псориаза. Белки семейства участвуют в дифференцировке эпидермиса, в процессах заживления ран. Цель нашего исследования — изучение вклада разных членов семейства в развитие болезни. Нами была создана линия кератиноцитов со сверхэкспрессией FRA1. Мы показали, что сверхэкспрессия данного белка в кератиноцитах приводит к изменению фенотипа клеток на мезенхимально-подобный. Кроме того, она запускает петлю аутоамплификации воспаления, поскольку под воздействием FRA1 наблюдается повышенный синтез ключевых для псориаза провоспалительных цитокинов и хемокинов (например, TNF α и CXCL8), что, в свою очередь, влияет на активацию FRA1. Следующим этапом исследования стала проверка того, специфичны ли такие свойства для всего семейства или характерны только для FRA1. Для этого были созданы конструкции с генами JunB, cJun и cFos. Полученные конструкции будут использованы для сборки лентивирусных частиц и получением стабильных клеточных линий с индуцибельной сверхэкспрессией отдельных членов семейства.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТИПИРОВАНИЕ ШТАММОВ *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

С.С. Зайцев, Ю.В. Салтыков, И.А. Субботина, Н.Н. Филонова, В.А. Федорова

Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии — филиал в Саратове, Россия; e-mail: nadejda.filonova@yandex.ru

Chlamydia trachomatis (СТ) является возбудителем одного из наиболее часто встречающихся венерических заболеваний — хламидиоза, преимущественно у молодых мужчин и женщин. Выявление сходства и различия между штаммами хламидий, выделенных от различных пациентов, осуществляется с помощью молекулярного типирования. Цель работы — провести *ompA* и MLST-типирование 61 изолята СТ. Материалом для исследований служили цервикальные и уретральные смывы от людей, с подтвержденным диагнозом урогенитальный хламидиоз. Для определения сиквенс-типа изолятов СТ использовали MLST-типирование на семь генов домашнего хозяйства (*gatA*, *oppA*,

hfiX, *gitA*, *enoA*, *hemN* и *fumC*). При постановке ПЦР использовали праймеры, ранее предложенные Y. Pannekoek (Pannekoek и соавт., 2008). В результате исследования клинических образцов были выявлены следующие сиквенс-типы СТ: ST4, ST6, ST9, ST10, ST38, ST94. На следующем этапе работы было проведено генотипирование региона VD2 гена *ompA*. В ПЦР использовали праймеры, указанные D. Dean (Dean и соавт., 1995). Нами было выявлено 7 геноваров СТ: D, E, F, G, H, J, K. Таким образом, найдены следующие геновары и сиквенс-типы СТ: D — ST4, E — ST4 и ST94, F — ST38, G — ST9, H — ST10, J — ST9, K — ST6.

Исследование выполнено при поддержке РНФ (проект №17-16-01099).

РЕЗУЛЬТАТЫ ПИЛОТНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ШТАММА ХЛАМИДИЙ ЗООНОЗНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ПЛАТФОРМЕ ILLUMINA HISEQ 2500

С.С. Зайцев¹, Ю.В. Салтыков¹, С.И. Яковлев², О.С. Ларионова^{1,3}, В.В. Евстифеев², В.А. Федорова¹

¹Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии — филиал в Саратове, Саратов, Россия;

²Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Россия;

³Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов, Россия; e-mail: zaytsev-sergey@inbox.ru

Секвенирование геномов возбудителей хламидиоза открывает дорогу к пониманию эволюции, филогенетического родства, клонального доминирования конкретных генетических линий и иммунобиологических свойств этих патогенов. Это особенно актуально в свете высокой распространенности штаммов семейства *Chlamydiaceae*, в том числе, на территории Российской Федерации. Цель настоящего исследования — пилотное секвенирование ДНК штамма хламидий зоонозного происхождения (лиофилизированный музейный образец). На первом этапе в предварительных экспериментах выявляли наличие хламидийной ДНК в испытуемом образце с использованием панели праймеров к специфическим участкам генома *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia abortus*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia felis*, *Chlamydia trachomatis* и т.д. В ПЦР данный штамм показал положительный результат на присутствие генетического материала *C. psittaci* и *C. abortus*. Далее секвенировали геном на секвенаторе Illumina HiSeq 2500 с последующей первичной обработкой полученных данных с помощью программного обеспечения Assembler SPAdes. В результате получено 2 млн ридов, которые затем были собраны в контиги с различной длиной и величиной покрытия. Контиги с величиной покрытия более 10 тыс. единиц сравнивали с референтными штаммами, депонированными ранее в NCBI GenBank, гомология составила 99% со штаммами *C. psittaci* и 94% с *C. abortus*. Далее планируется проведение аннотации данного генома с целью выявления уникальных точечных мутаций.

Исследование выполнено при поддержке РНФ (проект №17-16-01099).

ДИМЕТИЛИРОВАНИЕ ГИСТОНА H3K4 УЧАСТВУЕТ В ФОРМИРОВАНИИ ПАМЯТИ У МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ

Т.Г. Зачепило, Н.Г. Лопатина

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: polosataya2@mail.ru

Известно, что формирование памяти сопровождается активацией экспрессии генов и ремоделированием хроматина. Последнее зависит от эпигенетических модификаций ДНК и гистонов. Диметилирование гистона H3 по лизину 4 (H3K4me2) ассоциировано с активацией транскрипции и локализовано в промоторной части гена. Роль H3K4me2 в формировании памяти изучена недостаточно. Исследование выполнено на медоносной пчеле — уникальном модельном объекте для изучения памяти. Используются методы: условно-рефлекторный, иммуногистохимический и ОТ-ПЦР. Пчел обучали, далее извлекали мозг, фиксировали, готовили срезы, окрашивали с антителами к H3K4me2/гомогенизировали, выделяли РНК, проводили ОТ-ПЦР. Нами впервые показано, что у медоносной пчелы в процесс формирования ольфакторной ассоциативной памяти вовлекается H3K4me2. Диметилирование H3K4 усиливается в нейронах калликсов грибовидных тел — структур, отвечающих за обучение и память у насекомых — через 1 ч после обучения. В это же время повышается экспрессия генов гистоновых метилтрансфераз. Отметим, что в это же время наблюдается первая волна транскрипции (Lefeg и соавт., 2013). Полученные данные вносят вклад в понимание эпигенетических механизмов памяти.

Работа выполнена на животных из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН» на оборудовании ЦКП «Конфокальная микроскопия» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013—2020 гг. (ГП-14, тема 63.1).

ВЛИЯНИЕ ВИТАФЕРИНА-А НА КАЧЕСТВО И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ОСОБЕЙ DROSOPHILA MELANOGASTER

Н.В. Земская, И.А. Соловьев, Л.А. Коваль,
Е.В. Шеголева, А.А. Москалев

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН — обособленное подразделение ФГБУН ФИЦ «Коми НЦ УрО РАН», Сыктывкар, 167982, Россия; e-mail: zemnadezh@gmail.com

С возрастом происходит снижение жизненно важных функций организма человека. Возрастные изменения снижают адаптационные возможности организма, в результате повышается вероятность возникновения хронических заболеваний. Одной из актуальных проблем современной биологии является поиск веществ, способных эффективно увеличивать устойчивость к различным стрессовым факторам и способствующих активному долголетию. В настоящее время активно изучаются эффекты действия растительных экстрактов с целью изготовления на их основе фармакологических препаратов, способных продлевать жизнь модельным животным. Природные соединения также могут позиционироваться как адаптогены и средства против старения. В нашей работе впервые изучено влия-

ние витаферина-А на продолжительность жизни и характеристики жизнеспособности (стрессоустойчивость, плодовитость, циркадные ритмы, локомоторная активность, проницаемость кишечника) особей *Drosophila melanogaster*. Витаферин-А — небольшая молекула, стероидный лактон, представляет собой метаболит растения *Withania somnifera* (L.) *Dunal* (Витания снотворная), которое широко используется в народной медицине и известно под названием Ашваганда. Также как и другие представители группы витанолоидов, витаферин-А обладает широким спектром биологических активностей; он характеризуется выраженным противораковым действием, которое включает повышение эффективности работы систем клеточной антиоксидантной защиты и/или дезоксидации, подавление воспалительных сигнальных путей, избирательное ингибирование пролиферации опухолевых клеток и индукцию их апоптоза, подавление ангиогенеза в опухолях, предотвращение инвазии опухолей и метастазов, изменение метаболизма опухолевых клеток, иммуномодуляция, уничтожение раковых стволовых клеток (Lee, Choi, 2016). По крайней мере часть из описанных свойств указывает на его большой потенциал в качестве геропротектора.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-315-00086.

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ ПОЛИАМИНОКСИДАЗ У ДРОЖЖЕЙ *PICNIA* *PASTORIS*

А.В. Иванова, А.М. Румянцев

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: st055295@student.spbu.ru

Для разных видов дрожжей характерно наличие не больших генных семейств, кодирующих белки с одинаковой функцией. Их подробное изучение необходимо для понимания эволюции геномов и регуляторных систем микроорганизмов. Цель данной работы — изучение регуляции генов полиаминоксидаз у дрожжей *P. pastoris*. Для достижения этой цели были сконструированы репортерные системы, позволяющие исследовать активность промоторов этих генов. В ходе работы у *P. pastoris* были выявлены два гена полиаминоксидаз (*PpFMS1* и *PpFMS2*). Было обнаружено, что ген *PpFMS2* расположен рядом с геном алкогольоксидазы *AOX1*, и что их промоторные области могут перекрываться. Далее получили плазмиды, в которых под контроль данных промоторов были встроены последовательности репортерного гена кислой фосфатазы (КФ) *PHO5* дрожжей *S. cerevisiae*. Данными плазмидами трансформировали штамм 4-GS115 *his4 phox*, лишенный активности собственной КФ. У полученных трансформантов активность репортерной КФ на поверхности клеток пропорциональна активности исследуемых промоторов полиаминоксидаз. Штаммы, содержащие репортерные системы, выращивали в средах с различными источниками азота и углерода. Показано, что регуляция генов *PpFMS1* и *PpFMS2* различается в зависимости от условий. Активность промотора гена *PpFMS2* отсутствовала в средах с глицерином и смесью глицерина с метанолом, но проявлялась в среде с метанолом в качестве источника углерода. Полученные ре-

зультаты схожи с регуляцией гена *AOX1*, который репрессируется глицерином и индуцируется метанолом.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-34-00750 мол.а.

ОЦЕНКА ЧАСТОТЫ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА RS80981028 В ГЕНЕ ГЕФЕСТИНА ДЛЯ ВИДА *SUS SCROFA*

Е.В. Иванова¹, В.Н. Кипень²

¹Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь;

²ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь; e-mail: slavakipen@rambler.ru

На начало 2018 г. официальной статистической информации о численности дикого кабана на территории Республики Беларусь не представлено, однако охотоведы отмечают постепенное восстановление численности особей данного вида после резкого сокращения его численности по причине массовой депопуляризации из-за угрозы африканской чумы свиней. Ранее была показана возможность использования данных NGS-проектов для поиска ОНП (однонуклеотидный полиморфизм), обладающих высоким дифференцирующим потенциалом для различения дикого кабана и домашней свиньи [Кипень В.Н. Использование полногеномных данных проектов NGS для поиска решения криминалистической задачи по дифференциации диких кабанов и домашних свиней на основе анализа SNP / Молекулярная диагностика. М., 2017. Т.2. с.305]. На данный момент задача по дифференциации может быть решена с использованием анализа двух ОНП — с.367G>A (ген *MC1R*) и г.299084751C>T (ген *NR6A1*), — сбалансированная точность предсказания составляет не менее 98,5% [Кипень В.Н. и др. Использование двухлокусных SNP-систем для дифференциации в семействе Свиные при проведении судебно-экспертных исследований / Генетика популяций: прогресс и перспективы. М., 2017. с.130]. Однако для повышения точности дифференцирования могут быть использованы выявленные нами полиморфные варианты в гене гефестина — *HEPH*. Нашей целью было оценить частоту распространения полиморфизма rs80981028 среди особей дикого кабана и домашней свиньи, как обладающего потенциально высоким дифференцирующим потенциалом для их различения. Определение генотипа по rs80981028 осуществляли с использованием метода ПЦР-ПДРФ (эндонуклеаза рестрикции NdeI, NEB, США). ПЦР проводили в объеме 15 мкл в термоциклире CFX96 Touch (Bio-Rad, США). Сбалансированную точность предсказания оценивали с использованием ROC-анализа (в SPSS v.20.0) и MDR v.3.0.2. В исследование были включены следующие группы: выборка образцов биологического материала дикого кабана ($n=150$) и домашней свиньи ($n=210$). В результате проведенного нами исследования показано, что генотип С/С был выявлен для всех 210 особей домашней свиньи, вне зависимости от породной принадлежности. Для выборки дикого кабана распределение оказалось следующим: генотип С/С был выявлен в 3,3% (5/150) случаев, Т/С — 12,7% (19/150), Т/Т — 84,0% (126/150). Таким образом, нами на выборке из 150 ди-

ких кабанов и 210 домашних свиньях семи наиболее распространенных пород в Республике Беларусь (БКБ, БМ, БЧП, Дюрок, Ландрас, Йоркшир и Пьетрен) впервые на практическом материале доказан высокий дифференцирующий потенциал полиморфизма rs80981028 для различения особей дикого кабана (*Sus scrofa scrofa*) и его домашней разновидности (*Sus scrofa domestica*) — сбалансированная точность предсказания составила не менее 98,6% (при 100% специфичности).

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И ГЕОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЗЕРНА ГОЛОЗЕРНЫХ ОБРАЗЦОВ ОВСА

Ю.С. Иванова, М.Н. Фомина, О.А. Пай

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северного Зауралья — филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра Тюменского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, пос. Московский, Тюменской обл., 625501, Россия; e-mail: averyasova-uliy@mail.ru

Одним из морфологических признаков зерна является его форма. Сорты с игольчатой формой зерновки составили 41,0%, с овальной — 53,8% и грушевидной — 5,1%. Также одной из важных характеристик зерна являются глубина и ширина брюшной бороздки. В изучаемой коллекции были образцы с глубокой бороздкой, которые составили 25,4% из всего набора образцов. Среднюю глубину брюшной бороздки имели 50,2% и мелкую — 24,4%. Из общего количества изученных образцов с широкой бороздкой были 29,6% образцов, с узкой — 70,4%. Одним из важных морфологических признаков зерна голозерных сортов овса является его опушенность. В процессе изучения коллекционных образцов было выделено 4 степени опушения: сильное — 7,5%, среднее — 38,5%, слабое — 49,3%, без опушения — 4,7%. При оценке зерна, особенно для производства муки, необходима геометрическая характеристика (линейные размеры, форма, объем, площадь внешней поверхности). Геометрическая характеристика зерна голозерных сортов овса позволила рассчитать у них содержание эндосперма. Установлено, что содержание эндосперма у крупнозерных сортов выше, чем у мелкозерных. Доля эндосперма у крупнозерных образцов оставяла 82,20—83,98%. Изучение голозерных образцов овса по морфологическим признакам, линейным размерам и геометрическим показателям зерновки показало, что они в большой степени зависели от генотипа. Выделены источники хозяйственно ценных признаков, которые могут быть рекомендованы для использования в селекции овса голозерного на продовольственные цели: без опушения зерновки; с низким содержанием пленчатых зерен; крупнозерные с высоким содержанием эндосперма.

АНАЛИЗ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ В РАКОВОЙ И НОРМАЛЬНОЙ ТКАНИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТРАНСКРИПТОМНЫХ ДАННЫХ

А.В. Каныгина, Е.С. Котова

ФБГУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, 119435, Москва, Россия; e-mail: kanygina@rcpcm.org

Транскрипционная активность ретротранспозонов, способных к перемещению, является возможной причиной геномной нестабильности. Кодированные ими белки способны расщеплять ДНК, что может приводить к хромосомным перестройкам. Встраивание новых копий ретроэлементов в геном ведет к дерегуляции экспрессии генов и может способствовать хромосомным перестройкам за счет рекомбинации. Существуют свидетельства того, что образование хромосомных перестроек, характерных для рака предстательной железы, связано с активацией ретротранспозонов. Ретротранспозоны человека, сохранившие способность к перемещению, относятся к L1-элементам подсемейства L1Ns, а также к эндогенным ретровирусам подсемейства HERVK. Цель данной работы — выявление групп ретротранспозонов, дифференциально экспрессирующихся в раковой и нормальной ткани предстательной железы, с использованием транскриптомных данных, предоставляемых ресурсом TCGA (The Cancer Genome Atlas). С использованием программных пакетов TETranscript и SalmonTE был проведен анализ поли-A-транскриптомов опухолевой и нормальной ткани 52 пациентов. Обои алгоритмами было показано повышение экспрессии эндогенных ретровирусов HERVK11 и HERVK11D. Данные ретроэлементы относятся к подсемейству HERVK, для которого, в целом, обе программы также показали повышенное содержание РНК в опухолевой ткани по сравнению с нормальной. Для ретроэлементов L1NS не было обнаружено статистически значимого изменения уровня экспрессии в опухолевой ткани по сравнению с нормальной. В дальнейшем будет проведен анализ взаимосвязи экспрессии групп ретроэлементов HERVK11 и HERVK11D с наличием хромосомных перестроек, характерных для рака предстательной железы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-315-00363.

РОЛЬ VDAC1 В ПОИСКЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РАКА

О.Ш. Карапетян, М.Ю. Бибов, Н.М. Добаева

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 344022, Ростов-на-Дону; e-mail: biobooks@bk.ru

Потенциал-зависимый анионный канал 1 (Voltage-Dependent Anion Channel, VDAC1) внешней мембраны митохондрий — многофункциональный канал, который контролирует поток метаболитов между митохондрией и цитоплазмой, участвует в транспорте ионов, энергетическом и липидном обмене. VDAC1 — участник митохондриального пути апоптоза клетки, так как при его олигомериза-

ции образуется большой канал, через который проходят цитохром C и протеаза AIF (Apoptosis Inducing Factor), также VDAC1 регулирует апоптоз через взаимодействие с гексокиназой, белками Bcl-2 и Bcl-xL. Показано, что факторы, индуцирующие митохондриальный путь апоптоза через VDAC1, эффективны при терапевтическом лечении рака. Подобным фактором является фотодинамическое воздействие с применением фотосенсибилизаторов порфиринового ряда, обладающих сродством к мембранам митохондрий. При фотодинамическом воздействии идет генерация свободных радикалов, повреждающих липиды в мембране митохондрий, в результате чего происходит первоначальное падение мембранного потенциала. Изменение потенциала увеличивает вероятность открытия пор канала VDAC1, через которые выходят проапоптотические белки, инициируя каскад реакций апоптоза. Актуальным представляется поиск фотосенсибилизаторов, способных индуцировать апоптоз в раковых клетках путем модуляции VDAC1, что в дальнейшем позволит улучшить эффективность фотодинамической терапии рака.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МИКРОРНК У ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМ РАКОМ ПОЧКИ

Е.А. Климентова¹, И.Р. Гилязова¹, М.А. Бермишева¹, А.А. Измайлов², В.Н. Павлов², Э.К. Хуснутдинова¹

¹Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра РАН, 450054, Уфа, Россия;

²ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 450008, Уфа, Россия; e-mail: lissa987@yandex.ru

Исследование профиля экспрессии микроРНК при метастатическом светлоклеточном раке почки (СРП) было проведено в 18 образцах первичной опухоли, 6 образцах метастатической опухоли и 6 образцах нормальной ткани почек пациентов с СРП с использованием технологии OpenArray в QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System. В настоящем исследовании было обнаружено значительное снижение экспрессии микроРНК-199b (FDR p-value=0,0001) и микроРНК-582 (FDR p-value=0,0001) при метастатическом СРП, чем таковая в прилежащей ткани и первичной опухоли. Выявленные микроРНК ранее не были описаны при раке почки, но, учитывая данные литературы о генах-мишенях этих микроРНК и процессах, в которых они участвуют, можно предположить их участие в инвазии и миграции опухолевых клеток и, следовательно, в процессах метастазирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ №17-44-020050 и №17-44-020498.

ИЗУЧЕНИЕ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ У ДОЛГОЖИВУЩИХ ОСОБЕЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER*, МУТАНТНЫХ ПО ГЕНУ *E(Z)*

Л.А. Коваль^{1, 2}, Н.В. Земская^{1, 2}, М.В. Шапошников¹, А.А. Москалев^{1, 2, 3, 4}

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Сыктывкар, Россия;

²ФГБОУ ВО «СГУ им. Питирима Сорокина», 167001, Сыктывкар, Россия;

³Московский физико-технический институт (государственный университет), Московская обл., Долгопрудный, 141701, Россия;

⁴ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991, Россия; e-mail: lyubov.schilova@yandex.ru

Метилтрансфераза *E(Z)* метилирует H3K27 в H3K4me3. Данная метка необходима для работы ингибиторного комплекса 2 (PRC2), который участвует в пролиферации и дифференцировке клеток, а также в паттернах индивидуального развития. В 2010 г. Сиболд и соавт. показали, что мутация гена *E(z)* способна продлить жизнь *Drosophila melanogaster* на 76%. В данной работе мы изучили возрастную устойчивость особей *Drosophila melanogaster*, мутантных по гену *E(z)* к стрессу эндоплазматической сети, окислительному стрессу и тепловому шоку. Полученные данные свидетельствуют о роли данной метилтрансферазы в формировании устойчивости особей *Drosophila melanogaster* к стрессорам.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ N 14-50-00060.

ОЦЕНКА УРОВНЯ ПЛОИДНОСТИ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ РЕДИСА, ПОЛУЧЕННЫХ В КУЛЬТУРЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИКРОСПОР *IN VITRO*

Е.В. Козарь, Е.А. Домблидес, А.В. Солдатенко, А.С. Домблидес

ФГБУН «Федеральный научный центр овощеводства», 143080, М.О., Одинцовский район, п. ВНИИССОК, Россия; e-mail: koz.leno4ek@gmail.com

Получение удвоенных гаплоидов (ДН-растений) в культуре микроспор *in vitro* — один из биотехнологических методов, сокращающий время создания гомозиготных линий до 1 года. ДН-растения редиса европейского (*Raphanus sativus* var. *sativus*) были получены из сорта РБК при использовании сред: NLN-13 (Lichter, 1982) и модифицированной MS (Murashige and Skoog, 1962) с 13% сахарозой — для индукции эмбриогенеза; MS с 0,1 мг/л бензиламинопурина (БАП) и 2% сахарозой — для регенерации; и безгормональной среды В5 — для укоренения. Максимальный выход составил 7 эмбриоидов на чашку Петри (микроспоры из 5 бутонов), а потери на этапах регенерации и укоренения не превышали 30%. Анализ плоидности растений Ro при прямом подсчете хромосом в меристемных клетках с использованием DAPI и пропионо-лактоидного методов окраски показал, что 81,8% растений — удвоенные гаплоиды (2n=2x=18), а 18,2% — гаплоиды. Некоторые растения, содержащие двойной набор хромосом в меристемных тканях и определенные миксоплоидами при оценке плоидности с использованием проточной цитометрии клеточ-

ных ядер, были не способны завязать семена при самоопылении. Все потомство R1, полученное при самоопылении удвоенных гаплоидов, было диплоидным (определение производилось как проточной цитометрией, так и прямым подсчетом хромосом) и визуально выровнено по всем хозяйственно-важным признакам, что представляет ценность для дальнейшей селекционной работы.

ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННОЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ ПОЗВОЛЯЕТ КОРРЕКТИРОВАТЬ СОТНИ ПАТОГЕННЫХ ВАРИАНТОВ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е.В. Кондратьева¹, А.В. Лавров^{1, 2}, Г.Г. Вареников³, М.Ю. Скоблов^{1, 3}

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

³Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия; e-mail: ekaterina.kondratyeva@gmail.com

Недавно были разработаны новые инструменты на основе CRISPR/Cas9, которые называются редакторами оснований (base editors, BE). Они представляют собой нуклеотидные дезаминазы, слитые с Cas9 или его аналогом, и делают возможным направленную конверсию C(G) в T(A) и A(T) в G(C) без введения двухцепочечных разрывов ДНК. Это означает, что при наследственных заболеваниях может быть исправлено 4 типа мутаций: T>C, A>G, C>T, G>A. Однако BE активны в определенном «окне», состоящем из нескольких нуклеотидов, что ограничивает их потенциальное использование. Для поиска оптимальных мишеней для применения BE в клинической практике был проведен биоинформатический и экспертный анализ известных мутаций. Все известные патогенные мутации из базы ClinVar мы проанализировали на наличие PAM-последовательностей вблизи и на отсутствие других потенциальных мишеней для BE. В результате были созданы 4 базы данных мутаций, которые потенциально можно отредактировать с помощью наиболее изученных BE: BE3, Target-AID, dCpf1-BE и ABE7.10, и обнаружили 344, 537, 148 и 1959 мишеней, соответственно. В итоге теоретически можно отредактировать 13,8% всех патогенных мутаций T>C (A>G) и 10,5% мутаций C>T (G>A). Далее базу данных для системы Target-AID мы оценили вручную: проанализировали ссылки на мутации в базах ClinVar, OMIM и HGMD и первичные источники, оценивая доказанность патогенности и частоту встречаемости мутаций. В итоге были найдены 3 мутации: гомозиготная мутация 740A>G в гене *KERA* (причина плоской роговицы, распространена в Финляндии); мутация 332A>G в гене *KCNQ1* (синдром удлиненного QT, Швеция); и мутация в некодирующей части (-26+2T>C) гена *SLC26A4* (дистрофическая дисплазия, Финляндия). Обнаруженные мутации являются хорошими кандидатами для разработки генной терапии с помощью модификации CRISPR/Cas9.

АНАЛИЗ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У МЫШЕЙ РАЗНЫХ ЛИНИЙ

М.В. Коновалова, Д.С. Царегородцева,
Е.В. Свиршевская

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, Россия; e-mail: mariya.v.konvalova@gmail.com

Генетические факторы определяют предрасположенность к различным заболеваниям. Цель данной работы — оценка факторов врожденного иммунитета, к которым относятся белки фибринолиза tPA и PAI-1, тканевые цитокины TSLP, ИЛ-25 и 33, и антимикробные пептиды криптидин 4 (К4) и дефенсин 3 (Д3), у интактных мышей линий BALB/c (A), CBA (C) и C57BL/6 (L). Известно, что мыши линий A и L противоположны по реакциям адаптивной иммунной системы. Для них характерно формирование Т-хелперов 2 (Тх2) и Т-хелперов 1-го типа ответов соответственно. Для мышей линии C данных нет. Анализ активации врожденной иммунной системы оценивали методом ПЦР в реальном времени с нормированием на контрольный ген GAPDH. Показали, что у линии A в 5—20 раз выше продукция tPA, PAI-1 и их отношение, а также Д3 в барьерных тканях — мышцах, легких, кишечнике и коже. У мышей линии L в 1,5—2 раза был повышен К4, PAI-1 и TSLP в некоторых тканях. Не было значительных различий по экспрессии генов ИЛ-25 и 33. Профиль экспрессии факторов врожденного иммунитета у мышей линий C был близким к линии L (корреляция данных $r=0,87$, $p<0,001$) и отличался от линии A ($r=0,33$, $p>0,05$). В целом по реактивности врожденной системы линии располагались в ряду $A>C>L$. Таким образом, склонность к Тх2-ответу может быть связана с большей реактивностью факторов врожденного иммунитета.

РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ ГОШЕ И БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

А.Э. Копытова¹, М.А. Николаев^{1,2}, Г.Н. Рычков²,
К.А. Сенкевич^{1,2}, Г.В. Байдакова³, Е.Ю. Захарова³,
А.К. Емельянов^{1,2}, С.Н. Пчелина^{1,2}

¹Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург;

²Петербургский Институт Ядерной Физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина;

³Медико-генетический научный центр, Москва; e-mail: kopytova_ae@pnpi.nrcki.ru

Мутации в гене лизосомного фермента глюкоцереброзидазы (GBA), приводящие к дисфункции фермента глюкоцереброзидазы (GCase), в гомозиготном состоянии вызывают болезнь Гоше (БГ), а в гетерозиготном состоянии повышают риск развития болезни Паркинсона (БП) в 6—7 раз?. Обсуждается использование фармакологических шаперонов (ФШ) GCase для терапии как БГ, так и GBA-ассоциированной БП (GBA-БП). Цель данного исследования — оценить эффективность восстановления активности GCase, воздействуя ФШ на макрофаги пациентов с БГ и GBA-БП. Нами было проведено культивирование макрофагов пациентов с БГ ($n=6$), GBA-БП ($n=3$) и лиц контрольной группы ($n=3$). Показано увеличение фермента-

тивной активности GCase при использовании ФШ, являющихся ингибиторами GCase (изофагомин, амброксол), в макрофагах в исследуемых группах пациентов. Оценка ферментативной активности GCase проводилась методом тандемной масс-спектрометрии (ВЖХ-МСМС) в сухом пятне клеток. Методом компьютерного моделирования была создана гликозилированная модель мутантной GCase и описан механизм действия аллостерических ФШ GCase.

Исследование поддержано грантом РНФ №17-75-20159.

ТЕЛОМЕРНЫЕ РИБОНУКЛЕОПРОТЕИНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ НАРУШАЮТ БИОГЕНЕЗ КОМПОНЕНТОВ МИТОТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРИ ДИСФУНКЦИИ ТЕЛОМЕР В ПРОЦЕССЕ РАННЕГО РАЗВИТИЯ DROSOPHILA

М.Ю. Кордюкова¹, О.В. Побегуц², И.О. Бутенко²,
Ю.А. Абрамов¹, О.М. Оленкина¹, А.И. Калмыкова¹

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия;

²ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, Москва, Россия; e-mail: kordyukova.maria@yahoo.com

Ранее было показано, что механизмы поддержания целостности концов хромосом дрозофилы тесно связаны с сайленсингом теломер. При дисфункции теломер *Drosophila* многочисленные теломерные РНК — транскрипты теломерного ретротранспозона *HeT-A*, а также белок *HeT-A* Gag, накапливаются в ооците, транспортируются в эмбрион и формируют скопления рибонуклеопротеиновых (РНП) частиц у митотических полюсов, что сопровождается высоким уровнем эмбриональной смертности. Предполагается, что теломерные РНП участвуют в теломерном сигналинге при дисфункции теломер. Основной целью данного исследования было понять, как гиперэкспрессия *HeT-A* может влиять на процесс раннего развития *Drosophila*. На первом этапе было показано, что гиперэкспрессия *HeT-A* сама по себе в отсутствии каких-либо мутаций приводит к гибели эмбрионов. Действительно, когда трансгенный *HeT-A* гиперэкспрессировали в эмбрионах дрозофилы, смертность 0—5-часовых эмбрионов увеличивалась в 3,5 раза (до 50%) по сравнению с контрольными. Следовательно, избыточные *HeT-A* РНП токсичны для эмбрионов. Второй задачей является исследование самого механизма, с помощью которого *HeT-A* РНП при гиперэкспрессии могут нарушать развитие эмбрионов дрозофилы. Для этого мы выделили белковый комплекс, ассоциированный с *HeT-A* Gag, из лизата эмбрионов дрозофилы и исследовали его состав методом масс-спектрометрии. В составе комплекса были обнаружены белки Polo и Cdk1-киназы, регулирующие митоз. Гиперэкспрессия *HeT-A* сопровождалась значительным увеличением содержания этих белков на поздних этапах оогенеза и в ранних эмбрионах, что может быть причиной митотических нарушений. Таким образом, нарушение биогенеза митотических киназ за счет их взаимодействия с избыточными теломерными РНП, которые образуются при дисфункции теломер, может приводить к гибели эмбрионов.

Работа поддержана Программой президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и темой НИР 01201355491.

ВЫДЕЛЕНИЕ БЕЛКА-АРГОНАВТА ИЗ *RUNELLA SLITHYFORMIS* И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Е.В. Кропочева¹, Д.М. Есюнина¹, А.А. Аравин²,
А.В. Кульбачинский¹

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Москва 123182, Россия;

²Отделение Биологии и Биологической Инженерии, Калифорнийский технологический университет, Пасадена, СА 91125, США; e-mail: katerinakropocheva@ya.ru

Белки-аргонавты эукариот активно исследуются как основные действующие факторы РНК-интерференции и эпигенетической регуляции. Большое количество видов архей и бактерий также имеет гены, кодирующие белки этой группы. Однако функции белков-аргонавтов в бактериальной клетке до сих пор остаются невыясненными. Для исследования мы выбрали аргонавт из штамма DSM-19594 *Runella slithyformis* и экспрессировали его в клетках *Escherichia coli*. Очистку белка производили с использованием металл-аффинной и катионообменной хроматографии. В реакциях *in vitro* было показано, что аргонавт *R. slithyformis* способен специфично разрезать одноцепочечную ДНК с использованием коротких (18 нт) 5'-фосфорилированных гидовых ДНК в присутствии ионов Mn^{2+} , но не Mg^{2+} . При этом скорость реакции расщепления зависит от 5'-концевого нуклеотида. С РНК-гидами разрезания ДНК-мишени не происходит. Таким образом, аргонавт *R. slithyformis* является ДНК-зависимой ДНК-нуклеазой.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ СТРЕСС-АССОЦИИРОВАННЫХ БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ ДОМЕНУ ЦИНКОВЫХ ПАЛЬЦЕВ A20/AN1 В ГЕНОМЕ ЯБЛОНИ

П.В. Кузмицкая, О.Ю. Урбанович

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Республика Беларусь; e-mail: p.kuzmitskaya@igc.by

Стресс-ассоциированные белки (SAP, stress-associated proteins) представляют собой транскрипционные факторы с цинковыми пальцами, содержащие домены A20 (или) AN1. Уровни экспрессии кодирующих их генов изменяются под воздействием стресса у животных и растений. Цель данной работы — идентификация генов, кодирующих SAP, в геноме яблони домашней сорта Golden Delicious, анализ структурной организации гипотетических SAP из генома яблони и оценка их промоторных областей. Поиск генов, кодирующих SAP, проведен с помощью ПО hmmer3. Подтверждение принадлежности генов-кандидатов к семейству SAP выполнено с помощью SMART. Мы обнаружили 21 ген, каждый из которых кодирует белок, содержащий как минимум один домен цинковых пальцев AN1. Из их числа у 12 гипотетических белков N-конец содержит домен цинковых пальцев A20, C-конец — домен AN1, что является наиболее характерной структурой для SAP растений. Два белка имеют комбинацию AN1-AN1, и столько же — AN1-C2H2. У пяти белков имеется только по одному домену AN1. Гипотетические SAP яблони являются щелочными и имеют длину 109—293 а.к. (молекулярный вес 11,5—32 кДа). Расчетные изоэлектрические точки колеблются в пределах 6,51—

9,66. Результаты оценки клеточной локализации *in silico* показывают, что 12 SAP находятся в цитоплазме, 9 — секретируются. Анализ последовательностей, расположенных непосредственно перед первым кодоном генов, кодирующих SAP, показал, что на регуляцию их экспрессии могут влиять растительные гормоны, кальмодулин, изменение уровня освещенности, а также стрессовые воздействия.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОСОМ СМЖ И ПЛАЗМЫ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ НЕЙРОНАЛЬНЫХ КУЛЬТУР

Д.Г. Кулабухова^{1, 2}, Л.А. Гараева¹, Т.А. Штам¹,
Р.А. Камышинский^{1, 3}, Е.Ю. Варфоломеева¹,
Н.А. Верлов¹, А.В. Волницкий¹, С.Б. Ланда¹,
К.А. Сенкевич^{1, 2}, И.В. Милюхина^{1, 2, 5},
Г.В. Гаврилов⁴, А.К. Емельянов^{1, 2}, С.Н. Пчелина^{1, 2}

¹ФБГУ «Петербургский Институт Ядерной Физики им. Б.П. Константинова Национального Исследовательского Центра «Курчатовский Институт», 188300, Ленинградская область, Гатчина, Россия;

²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, Россия;

³Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182, Москва, Россия;

⁴Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, 194044, Санкт-Петербург, Россия;

⁵Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: kulabuhova_dg@pnpi.nrcki.ru

Считается, что перенос патогенных форм альфа-синуклеина экстраклеточными везикулами, в частности экзосомами (80—100 нм), может являться ключевым моментом патогенеза при болезни Паркинсона (БП). Цель настоящего исследования — оценка влияния экзосом спинномозговой жидкости (СМЖ) и плазмы крови пациентов с БП на выживаемость нейрональных клеточных линий. Экстраклеточные везикулы были выделены методом последовательного ультрацентрифугирования из СМЖ 12 пациентов с БП и 2 пациентов с синдромом Хакима—Адамса и плазмы периферической крови 12 пациентов с БП, 4 пациентов с болезнью Гоше (БГ) и 5 представителей контрольной группы, и охарактеризованы с использованием анализа траекторий наночастиц (НТА), метода динамического светорассеяния, цитометрического анализа, просвечивающей и криоэлектронной микроскопии. Оценка выживаемости нейрональных клеточных линий (нейробластома IMR32, нейроглиома) при со-культивации с экзосомами СМЖ и плазмы крови с использованием MTS теста, метода импедансометрии и проточной цитометрии не выявила различий между исследуемыми группами. В составе микровезикул плазмы крови пациентов с БГ методом динамического светорассеяния и цитометрией показано превалирование CD9 положительных микровезикул размером 80—100 нм по сравнению с контрольной группой. Впервые была проведена криоэлектронная микроскопия экзосом СМЖ.

Исследование поддержано грантом РФФИ №18-015-00262 А.

НОВЫЕ ТАНДЕМНЫЕ ПОВТОРЫ, ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫЕ В ГЕНОМЕ ЯПОНСКОГО ПЕРЕПЕЛА

М.М. Кулак¹, А.С. Комиссаров¹, А.Г. Демин²,
В. Фийон³, А.Ф. Сайфитдинова¹, О.А. Павлова¹,
Е.Р. Гагинская¹, С.А. Галкина¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, 190034, Санкт-Петербург, Россия;

² Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского Минздрава РФ, 410012, Саратов, Россия;

³ Национальный институт с.-х. исследований, 31326 Кастане-Толозан, Франция; e-mail: ontica@mail.ru

Многочисленные тандемно расположенные последовательности (тандемные повторы, ТП) являются неотъемлемой частью геномов эукариот. Протяженные блоки ТП образуют центромерные, перичентромерные, а иногда и теломерные области хромосом. Для более коротких массивов ТП показана роль в регуляции экспрессии генов, в том числе генов количественных признаков, они могут быть причиной парамутаций. Многочисленность, полиморфность, зачастую обогащенность ГЦ-нуклеотидами, отсутствие совершенных методов их сборки и аннотирования при секвенировании целых геномов, — основные причины недостаточной изученности ТП даже в геномах модельных и сельскохозяйственных видов. Японский перепел *Coturnix japonica* — один из самых высокопродуктивных с.-х. видов птиц, а также модельный объект биомедицины, биологии развития и физиологии поведения. Геном перепела был одним из первых, исследованных на присутствие сателлитной ДНК. В нашей работе мы выполнили анализ баз сырых данных секвенирования и идентифицировали 23 новых ТП, составляющих по меньшей мере 4,8% генома перепела. С помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* мы показали, что выявленные нами ТП входят в состав гетерохроматина коротких плеч субметацентрических микро- и акроцентрических макрохромосом СJA3 и СJA4. ТП СJA4 с базовой повторяющейся единицей ~1180 п.н. входит в состав перичентромерных районов СJA 1—6 и по крайней мере трех пар микрохромосом, а также в состав р- и q-плеч СJAW. Полученные данные дополняют имеющиеся данные об организации и эволюции геномов птиц.

Техническая и финансовая поддержка: Центр геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского, РЦ ЦКП «Хромас», РЦ «РМиКТ» Научного парка СПбГУ, мероприятие 4 СПбГУ (проект №1.40.1625.2017).

АНАЛИЗ МУТАЦИЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ У ПАЦИЕНТОВ, ЗАРАЗИВШИХСЯ ЗА ПРЕДЕЛАМИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

В.Ю. Лага

ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, Москва, Россия. e-mail: vita.laga@mail.ru

ВИЧ-инфекция — проблема, актуальная для всех стран, в том числе и для России. Повсеместное распространение антиретровирусной терапии, с одной стороны, и отсутствие приверженности у пациентов и перебои с терапией, с другой стороны, приводят к постепенному увеличению частоты встречаемости лекарственной устойчивости ВИЧ. Вклад

в увеличение разнообразия генетических вариантов вносят и пациенты, инфицированные за пределами страны, возможно, нетипичными для России вариантами ВИЧ.

Цель нашей работы — анализ мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ у пациентов, заразившихся за пределами Российской Федерации.

Материал и методы. Мы проанализировали 2690 последовательностей, имеющихся в лабораторной базе данных, а также те российские последовательности из базы данных GenBank, для которых имелись следующая информация: путь заражения, подтип, установленное наличие/отсутствие терапии. Анализ наличия мутаций лекарственной устойчивости проводился с помощью он-лайн программы CPR (<http://cpr.stanford.edu/cpr.cgi>) и HIVdb Program (<https://hivdb.stanford.edu/hivdb/by-mutations/>).

Результаты. Из всех проанализированных пациентов для 14 предполагаемое место инфицирования находилось за пределами Российской Федерации. Трое из 14 пациентов на момент забора крови для исследования получали АРТ. Мутации ЛУ были обнаружены у одного из них. Интересен тот факт, что была обнаружена мутация ЛУ K103N к HNIOT, при этом в известной схеме терапии препаратов данной группы не было.

Вывод. На основе анализа известных данных можно сделать предположение о том, что в настоящее время вклад заносов вариантов ВИЧ, имеющих мутации ЛУ, из других стран в эпидемию ВИЧ-инфекции в Российской Федерации небольшой, тем не менее отдельные случаи обнаружения вариантов с лекарственной устойчивостью требуют пристального внимания и слежения.

Работа выполнена благодаря финансовой поддержке проекта РФФ № 15-15-00050П (2018-2019).

РАЗРАБОТКА ДРОЖЖЕВОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КОНФОРМАЦИОННОГО ПЕРЕХОДА ПРИОННОГО БЕЛКА PRP

В.В. Лашкул¹, Д.В. Качкин¹, Ю.О. Чернов^{1,2},
А.А. Рубель¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Научная лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербург, Россия;

² Технологический институт Джорджии, Атланта, США; e-mail: lashkulvv@mail.ru

Болезни неправильной укладки являются весьма распространенными заболеваниями, характеризующимися неправильной укладкой определенных белков организма. К таким заболеваниям относятся болезнь Альцгеймера и прионные заболевания, так как они ассоциированы с агрегацией амилоидных белков A β и PrP, что является характерной чертой этих расстройств. На сегодняшний день все они являются неизлечимыми. Удобным модельным объектом для изучения амилоидов млекопитающих *in vivo* являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, так как формируемые в дрожжах агрегаты не токсичны и вместе с этим сходны с агрегатами, выявляемыми у млекопитающих. На данный момент фенотипическая детекция агрегации белков в дрожжах невозможна. В нашей лаборатории разрабатывается дрожжевая модель, позволяющая по фенотипу оценивать амилоидогенный статус белков и проводить масштабный поиск факторов, влияющих на процессы амилоидогенеза. В качестве репор-

тера мы используем С-терминальную последовательность дрожжевого фактора терминации трансляции — Sup35. В штаммах, маркированных нонсенс-мутацией *ade1-14* и не-сущих делецию хромосомной копии *SUP35*, гибридный белок, включающий последовательность изучаемого амилоидогенного белка и репортерную последовательность, должен эффективно выполнять функции терминатора трансляции, что можно детектировать по отсутствию роста дрожжей на селективной среде без аденина. Агрегация амилоидогенного белка будет приводить к росту штаммов на селективной среде. В настоящее время нами разрабатываются дрожжевые модели для фенотипического анализа агрегации мышинового белка PrP и пептида Aβ человека.

Работа выполнена при поддержке грантов РНФ №14-50-00069 и РФФИ №18-04-00799. Для выполнения исследований использовалась приборная база РЦ «ЦКП ХРО-МАС» и «РМИКТ» научного парка СПбГУ.

РАЗРАБОТКА MS-SNUPE ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА ELOVL2, F5 И ZYG11A

В.А. Лемеш, М.В. Богданова, А.А. Буракова, О.И. Добыш, В. Н. Кипень, А.А. Виноградов

Государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь; e-mail: m.bogdanova@igc.by

В настоящее время метилирование ДНК является одним из наиболее перспективных биомаркеров, прогнози-

рующих возраст. На сегодняшний день основная часть данных, описывающих взаимосвязь профилей метилирования с возрастом, получена с использованием технологии ДНК-чипов Illumina Methylation BeadChip450k. Однако данный метод не практичен для применения в обычных судебных лабораториях, которые обычно имеют дело с ограниченным количеством ДНК. Поэтому необходима разработка панелей, состоящих из небольшого числа CpG маркеров, обеспечивающих высокую точность прогнозирования на различных платформах, например, пиросеквенирование, MassArray и MS-SnuPE. Для разработки праймеров для MS-SnuPE анализа нами были выбраны CpG локусы, которые находятся в составе последовательности генов ELOVL2, F5 и ZYG11A, поскольку для данных CpG была показана зависимость уровня метилирования от возраста во многих независимых исследованиях. Для амплификации геномной ДНК, обработанной бисульфитом натрия, были использованы ПЦР-праймеры, разработанные J. Naue и соавт. (2017), а внутренние праймеры для целевых CpG в ПЦР-продуктах были разработаны нами с использованием программы BatchPrimer3 v1.0. Последовательности праймеров указаны в **таблице**.

Созданные праймеры будут использоваться для разработки методики определения вероятного возраста неизвестного индивида по образцу его ДНК.

Последовательности праймеров к генам человека для анализа метилирования ДНК

№	Название гена	Illumina ID для CpG	Последовательность праймеров, 5'-3'		Размер фрагмента, п.н.	Размер MS-SnuPE
1	<i>ELOVL2</i>	cg16867657	F	GGYGATTTGTAGGTTTAGT	156	21
			R	ACCCAACATAAAACAAAACCAAC		
			MS-SnuPE	CTCCRTAAACRTTAAACCRCC		
2	<i>F5</i>	cg16054275	F	GGAGTTATTTGTTTAAAGGTGGTT	146	24
			R	AACTATATCCCTCCATTTCCAC		
			MS-SnuPE	CCTACCAACACCACAAAAACAATC		
3	<i>ZYG11A</i>	cg06784991	F	AGGTATTTGTTGGGGAGTGT	170	26
			R	CTCAAAACRCAAATTCAC		
			MS-SnuPE	CCTAAAAAAACTCRACATCTAAACC		

ВЫДЕЛЕНИЕ НУКЛЕАЗЫ, АССОЦИИРОВАННОЙ С БЕЛКОМ-АРГОНАВТОМ БАКТЕРИИ *RHODOBACTER SPHAEROIDES*

Л.А. Лисицкая¹, А.А. Комар², Д.М. Есюнина¹

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, Россия;

²Center for Gene Regulation in Health and Disease and Department of Biological, Geological and Environmental Sciences, Cleveland State University, Cleveland, OH, 44115, USA; e-mail: lisitskaya@img.ras.ru

Белки-Аргонавты являются центральным компонентом систем РНК-интерференции эукариот. Специфичность действия этих белков обеспечивается связыванием коротких «гидовых» молекул нуклеиновых кислот, которые служат для распознавания и расщепления комплементарных мишеней. Белок-Аргонавт альфапротеобактерии *Rhodobacter sphaeroides* (RsAgo) использует гидовые РНК для узнавания ДНК-мишеней, но не обладает нуклеазной активностью из-за замен аминокислотных остатков в активном центре. Однако RsAgo может вызывать расщепление плазмидной ДНК *in vivo* за счет действия дополнительных нуклеаз. Известно, что гены, кодирующие неактивные прокариотические белки-Аргонавты, часто расположены рядом с генами, кодирующими предполагаемые нуклеазы. Рядом с белком RsAgo тоже закодирована предполагаемая нуклеаза — белок из семейства PD-(E/D)хК-нуклеаз, ген которого имеет перекрывающуюся рамку считывания с геном RsAgo. Цель нашей работы — выделение этой нуклеазы и исследование ее свойств *in vivo*. Многочисленные попытки экспрессировать природный ген нуклеазы в клетках *E. coli* не привели к успеху из-за низкого уровня экспрессии и низкой растворимости рекомбинантного белка. Для обеспечения эффективной суперпродукции нуклеазы в *E. coli* была создана кодон-оптимизированная последовательность гена нуклеазы, что позволило достичь высокого уровня ее экспрессии. Очистку белка осуществляли с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии, чистота полученного образца составляла не менее 98%. Дальнейшее изучение каталитических свойств полученной нуклеазы и ее взаимодействий с белком RsAgo поможет установить механизмы процессинга нуклеиновых кислот и функции этого белка в клетках бактерий.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации (договор 14.W03.31.0007).

РОЛЬ ФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛ 3-КИНАЗА ПОДОБНЫХ КИНАЗ (PIKK) В ИНДУЦИРОВАННОМ ГИПЕРТЕРМИЕЙ РЕПЛИКАТИВНОМ СТРЕССЕ

А.В. Лужин, А.К. Величко, Н.В. Петрова, О.Л. Кантидзе

ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, 119334, Россия; e-mail: artyom.luzhin@gmail.com

Известно, что гипертермия может ингибировать некоторые белковые факторы-участники различных систем репарации, включая системы репарации двуцепочечных разрывов ДНК, системы эксцизионной репарации и систему

репарации ошибочно спаренных оснований. Кроме того, гипертермия сама является повреждающим ДНК фактором. Ранее нами было показано, что гипертермия может приводить к образованию как одноцепочечных, так и двуцепочечных разрывов ДНК в клетках человека. Интересно, что образование двуцепочечных разрывов ДНК вследствие гипертермии происходит только в клетках, находящихся в G1- и G2-фазах клеточного цикла, в то время как в S-фазе гипертермия приводит к замедлению/аресту репликации ДНК и образованию только одноцепочечных разрывов ДНК. Тем не менее, в S-фазе гипертермия индуцирует PIKK-зависимый ответ на повреждения ДНК, в частности, фосфорилирование гистона H2AX по серину-139 (gammaH2AX). Нами было продемонстрировано, что предотвращение такого фосфорилирования приводит к образованию двуцепочечных разрывов ДНК в клетках, находящихся в S-фазе клеточного цикла, и последующей гибели этих клеток. Более того, был охарактеризован молекулярный механизм восстановления репликации после индуцированного гипертермией ареста. Была детально исследована роль PIKK-киназы в предотвращении образования сложнорепарируемых повреждений ДНК вследствие индуцированного гипертермией ареста репликации. В частности, мы показали, что для предотвращения образования сложнорепарируемых повреждений ДНК необходима активность PIKK-киназы ATR, для привлечения в вилку репликации белка BRCA1, который необходим для «защиты» остановленной вилки репликации. Методом солевых экстракций было показано, что тепловой стресс приводит к инактивации белка BRCA1. Кроме того, мы показали, что в случае теплового стресса функции белка BRCA1 (на фоне его инактивации) выполняет белок PARP, который маркирует остановленные вилки репликации поли(АДФ-рибозой).

Работа проводится при поддержке Российского научного фонда (грант №17-74-20030).

НОКАУТ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SET7/9 ПОВЫШАЕТ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ КЛЕТОК РАКА ЛЕГКОГО К ГЕНОТОКСИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ

В.А. Мамонтова¹, А.В. Петухов^{1,2}, О.Ю. Шувалов¹, О.А. Федорова¹, Н.А. Барлев¹, А.А. Дакс¹

¹Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, 194064, Россия;

²Медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, 197341, Россия; e-mail: victoria.shubina@icloud.com

Известно, что метилтрансфераза Set7/9 осуществляет эпигенетическую регуляцию путем метилирования гистона H3. Также в список ее мишеней входят транскрипционные факторы: p53, E2F1, YAP и др. Эти мишени играют ключевые роли в регуляции клеточного цикла, апоптоза, стрессового ответа, а взаимодействие с p53 может указывать на участие Set7/9 в подавлении развития опухоли. Таким образом, регуляция активности Set7/9 может влиять на чувствительность клеток к ДНК-повреждающим препаратам. Используя ранее полученную линию клеток немелкоклеточной карциномы легкого человека A549 с нокаутом Set7/9, нами было показано, что отсутствие функционального белка Set7/9 увеличивает чувстви-

тельность раковых клеток к генотоксическим препаратам: доксорубину и цисплатину. Более того, было продемонстрировано, что нокаут Set7/9 приводит к увеличению количества апоптотических клеток в ответ на действие эпопозида. Мы также исследовали чувствительность к препаратам и апоптотический индекс у клеток A549, подвергавшихся воздействию (R)-PFI-2 — селективного ингибитора Set7/9.

Работа поддержана грантом РФФ №17-75-10198.

ЭФФЕКТИВНАЯ ТРАНСДУКЦИЯ ФИБРОБЛАСТОВ ЛАСТОНОГИХ С ПОМОЩЬЮ НЕИНТЕГРАТИВНЫХ ВЕКТОРОВ

А.Г. Мензоров^{1,2}, В.Р. Беклемишева³

¹ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, 630090, Новосибирск, Россия;

²ФГАОУВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 630090, Новосибирск, Россия;

³ФГБНУ Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, 630090, Новосибирск, Россия; e-mail: menzorov@bionet.nsc.ru

Одно из ключевых событий в биологии развития — получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). Цель исследования — поиск условий репрограммирования фибробластов ластоногих, представителей каноидной ветви Хищных. Мы сравнили две системы доставки репрограммирующих транскрипционных факторов: лентивирусные векторы и вектор на основе вируса Сендай, преимущество которого — отсутствие встройки в геном. Флуоресцентный белок экспрессировали в фибробластах семи видов ластоногих: северного морского котика (*Callorhinus ursinus*), северного морского льва (*Eumetopias jubatus*), моржа (*Odobenus rosmarus*), морского зайца (*Erignathus barbatus*), байкальской нерпы (*Pusa sibirica*), кольчатой нерпы (*Phoca hispida*) и пестрой нерпы (*Phoca largha*). Мы показали, что система трансдукции на основе вируса Сендай обеспечивает стабильный уровень экспрессии трансгена на 1—2 порядка выше, чем лентивирусы. Полученные данные позволяют предположить, что трансдукция фибробластов ластоногих с помощью вируса Сендай предпочтительна для получения ИПСК ластоногих.

Исследование поддержано грантом РФФИ №17-04-00644 и бюджетным проектом №0324-2018-0016. Часть работы проведена на базе ЦКП «Коллекция плюрипотентных культур клеток человека и млекопитающих общепроцессуального и биомедицинского направления» ФИЦ ИЦиГ СО РАН (<http://skp.icgen.ru/cells/>; http://www.biores.cytogen.ru/brc_cells/collections/ICG_SB_RAS_CELL). Используются первичные культуры фибробластов ластоногих из Коллекции культур клеток общепроцессуального назначения (№0310-2016-0002) отдела разнообразия и эволюции геномов ИМКБ СО РАН.

СОЗДАНИЕ РЫБ ЗЕБРАДАНИО (*DANIO RERIO*) С НОКАУТАМИ ПО ГЕНАМ ТРАНСПОРТЕРОВ СЕРОТОНИНА (*SLC6A4A* И *SLC6A4B*) КАК МОДЕЛИ АФФЕКТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

Д.А. Мешалкина¹, М.А. Казалов², Э.В. Кисель¹, И.В. Мизгирев³, Я.В. Федорова⁴, А.Н. Козлова¹, Е.Б. Малашичев¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ), 199034, Санкт-Петербург, Россия;

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого (СПбПУ), 195251, Санкт-Петербург, Россия;

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, 197758, Санкт-Петербург, Россия;

⁴Сколковский Институт науки и технологии, 121205, Москва, Россия; e-mail: postoronniW@yandex.ru

Рыбы *D. rerio* с нокаутом по генам транспортеров серотонина будут являться ценными для моделирования аффективных расстройств. Для создания таких рыб было выбрано редактирование генома при помощи системы CRISPR/Cas в двух вариантах рибонуклеопротеидных комплексов — sgRNA-Cas9 и crRNA с LbCpf1. Помимо *slc6a4a* и *slc6a4b* в качестве мишени-маркера также был использован ген *slc45a2*, нокаут которого приводит к нарушению пигментации. Сформированные комплексы вводили в зиготу микроинъекцией перед прохождением первого деления. На 3-й день развития часть эмбрионов из каждой группы забирали для анализа на наличие мутаций в целевых генах с помощью T7 эндонуклеазы I и секвенирования по Сэнгеру. Обнаружено, что оба варианта комплексов вызывают появление мутаций в целевых локусах, хотя эффективность варьировала в пределах от 5,9% для *slc6a4b-2-Cpf1* до 90,2% для *slc45a2-3-Cpf1* (согласно алгоритму TIDE (Brinkman и соавт., 2014)). При этом даже для эмбрионов с высокой эффективностью редактирования была характерна мозаичность — при полной утрате аллеля дикого типа мы обнаруживали широкий спектр делеций. Поэтому для выбора основателей мутантных линий будет проведено генотипирование потомков особей, несущих мутации.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ мол_а18-315-00375 и ресурсного центра Развитие молекулярных и клеточных технологий Научного парка СПбГУ.

СВЯЗЬ МЕЖДУ ИНДЕКСОМ МАССЫ ТЕЛА И СООТНОШЕНИЕМ *FIRMICUTES* И *VASTEMIDETES* В МИКРОБИОМЕ КИШЕЧНИКА ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ УКРАИНЫ

В.В. Мосейко^{1,2}, А.К. Коляда^{1,2}, А.К. Сизенко³, Л.А. Будовская³, К.С. Пучков³, Ю.В. Гавалко¹, М.С. Романенко^{1,4}, А.М. Вайсерман¹

¹ГУ «Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины», Киев, Украина;

²Генетическая лаборатория, ООО «Diagen», Киев, Украина;

³Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев, Украина;

⁴Национальная медицинская академия последилового образования им. П.Л. Шупика, Киев, Украина; e-mail: moseykovlad@gmail.com

Исследовались отличия в составе основных типов микробиоты кишечника у взрослого населения Украины и их

связь с индексом массы тела (ИМТ). Обследован 61 взрослый в возрасте от 19 до 76 лет (средний возраст $44,3 \pm 1,6$ года). Пациентов распределили на четыре группы по величине ИМТ: со сниженной массой тела — ИМТ $< 18,5$ кг/м²; с нормальной массой тела — ИМТ $18,5$ – $24,9$ кг/м²; с избыточной массой тела — ИМТ $25,0$ – $29,9$ кг/м², с ожирением — ИМТ $> 30,0$ кг/м². Проанализировано содержание *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* и отношение *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/V) в фекалиях. Количество *Firmicutes* постепенно повышалось, а *Bacteroidetes* уменьшалось с увеличением ИМТ и, соответственно, возрастало отношение F/V. В некорректированной модели логистической регрессии установлена корреляция величины отношения F/V с ИМТ (отношение шансов 1,23, 95% доверительный интервал 1,09–1,38), которая оставалась значимой при корректировке таких факторов, как возраст, пол, физическая активность и курение (отношение шансов 1,33, 95% доверительный интервал 1,11–1,60). Полученные данные соответствуют результатам исследований в других популяциях.

* * *

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КВАРЦЕВОГО РЕЗОНАТОРА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МЕХАНИЧЕСКОЙ ДЕНАТУРАЦИИ ДВОЙНОЙ СПИРАЛИ ДНК

Д.В. Некрасов^{1,2}, Н.Н. Курусь¹, Ф.Н. Дульцев^{1,2}, А.А. Ломзов^{2,3}, Г.Ю. Шевелев^{2,3}, Д.В. Пышный³

¹ФГБУН Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН, Новосибирск, Россия 630090;

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090, Россия;

³ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, 630090, Россия; e-mail: nekrrus@gmail.com

Для исследования механической денатурации ДНК был использован кварцевый резонатор (QCM) в активной моде. В отличие от атомно-силовой спектроскопии (АСС), в данной методике за одно измерение получается результат, усредненный по ансамблю частиц. Кроме того, отсутствует ограничение степени свободы, как в случае АСС, где молекула зафиксирована на кантилевере. Однако, в отличие от АСС, метод QCM позволяет проводить измерения только в режиме разрыва с последовательным разделением нуклеотидов. Используя метод QCM, меняя скорость нарастания амплитуды колебаний кварцевого кристалла, мы получили зависимость силы разрыва дуплексов ДНК длиной 20 пар оснований от времени сканирования t . Исследуемые дуплексы были сформированы полностью комплементарными (ON1/ON2) и частично некомплементарными (ON1/ON3) модельными олигонуклеотидами. Для того чтобы оценить энтальпию реакции денатурации, процесс денатурации рассматривали как мономолекулярную реакцию. Это позволило восстанавливать энергетические профили денатурации из экспериментальных данных, полученных при измерениях силы разрыва при различных временах сканирования, в диапазоне температур от 20 до 40 °С. С ростом температуры вероятность пребывания дуплекса в связанном состоянии уменьшается. Полученная зависимость силы разрыва от времени сканирования имеет два линейных участка. С увели-

чением скорости сканирования наблюдается увеличение силы, что обусловлено уменьшением вклада тепловых колебаний в разрыв дуплекса. На основе результатов измерений, проведенных при разных температурах, можно оценить значение энтальпии активации диссоциации комплекса.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00320.

* * *

ВЫДЕЛЕНИЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ ЭКСТРЕМОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ *DEINOCOCCUS GOBIENSIS*

М.В. Никитин¹, М.А. Простова¹, Д.М. Есюнина¹, А.А. Комар², А.В. Кульбачинский¹

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва 123182, Россия;

²Center for Gene Regulation in Health and Disease and Department of Biological, Geological and Environmental Sciences, Cleveland State University, Cleveland, OH, 44115, USA; e-mail: nikitin.mv@bk.ru

Экстремофильные бактерии рода *Deinococcus* обладают высокой устойчивостью к воздействию радиации, что делает их очень интересной моделью для изучения механизмов репарации ДНК и систем защиты генома от повреждений. Одной из таких систем могут быть почти не изученные специализированные ДНК-полимеразы X- и Y-семейств, закодированные в геномах этих бактерий. Цель данной работы — исследование функциональных свойств этих ДНК-полимераз, в частности, их способности к прохождению поврежденных участков ДНК, на примере полимераз X и Y *D. gobiensis*. Гены этих полимераз были оптимизированы для успешной экспрессии белков в *E. coli* в растворимой форме и клонированы в экспрессионный вектор. Подобраны условия экспрессии, позволяющие получить достаточное количество растворимого целевого белка. Две последовательные хроматографические очистки на аффинных носителях — Ni-сефарозе и гепарин-сефарозе — позволили выделить полимеразы с высокой степенью чистоты ($> 95\%$). В настоящее время проводятся эксперименты по измерению полимеразной и экзонуклеазной активности данных белков, что позволит в дальнейшем определить точность их работы и способность к репликации поврежденной ДНК.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-14-01393.

* * *

ПОЛУЧЕНИЕ АСТРОЦИТОВ ИЗ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Е.В. Новосадова, Е.Л. Арсеньева, Ю.Н. Ванюшина, Т.В. Малова, С.А. Антонов, В.З. Тарантул, И.А. Гривенников

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, Россия; e-mail: novek-img@mail.ru

В настоящее время большое внимание уделяется изучению механизмов функционирования центральной нервной системы человека на всех уровнях организации — от молекулярного, клеточного до всего организма в целом.

При этом крайне важным является изучение нервной системы при развитии патологических процессов, так как подобный анализ позволит получить наиболее полную информацию о функционировании нервной системы в различных условиях и стать основой для формирования новых подходов к терапии наиболее распространенных неврологических заболеваний. Развитие патологии глиальных клеток может предшествовать появлению симптомов болезни Паркинсона (БП), а также других других нейродегенеративных заболеваний. Длительное нарушение астроцитарных функций может повышать уязвимость дофаминергических нейронов черной субстанции, ускорить их дегенерацию и повлиять на способность компенсировать частичную дегенерацию на пресимптомных стадиях заболевания. В то же время энергетическая и трофическая поддержка астроцитов является одним из существенных факторов нейрональных компенсаторных механизмов дофаминергической системы и может играть ведущую роль на ранних стадиях БП. Однако в настоящее время исследования вовлеченности глиальных клеток в развитие нейродегенеративных процессов имеют крайне ограниченный характер. В большей степени это связано с невозможностью получения *in vitro* необходимого количества данного типа клеток человека. В настоящее время разрабатываются протоколы получения различных типов глиальных клеток из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) человека. В нашей работе были получены культуры астроцитов из ИПСК от здоровых доноров и пациентов с БП. Полученные клетки были охарактеризованы: морфологически, иммуноцитохимически (окраска антителами на специфические маркеры астроцитов s-100 и GFAP) и молекулярно-биологически (экспрессия необходимого паттерна мРНК). Проведены первые эксперименты по сокультивированию астроцитов и дифференцированных нейронов.

Данная работа была поддержана грантом программы Президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий».

* * *

ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ ИЗ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ (SALMONIDAE)

А.Ю. Носова, А.И. Царь, А.А. Буракова, О.И. Добыш

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Республика Беларусь; e-mail: a.nosova@igc.by

Значительные различия по цене рыб разных семейств, подгрупп, видов и наименований создают базу для фальсификации рыбных товаров. Наиболее часто фальсифицируются рыбы семейства лососевых, так как анатомо-морфологические признаки разных видов рыб этого семейства имеют определенное сходство, а различия между видами могут распознать только специалисты или лица, занимающиеся уловом и переработкой лососевых. Молекулярно-генетические подходы видоопределения считаются одними из наиболее надежных и достоверных, так как даже после различных видов обработки рыбного сырья (нагревание, копчение и др.) в образцах сохраняется ДНК в достаточном количестве для проведения ПЦР и, соответственно, для генетической идентификации. Нами изучены образцы

пищевой продукции из красной рыбы (семги, радужной форели, горбуши, нерки, кижуча, кеты) различной обработки (свежемороженая, слабосоленая, холодного и горячего копчения, икра слабосоленая пастеризованная, рыбные консервы). Одной из наиболее видоспецифичных и часто используемых в баркодировании животных является последовательность митохондриального гена, кодирующего субъединицу I оксидазы цитохрома С (COI). Использование специфичных маркеров к последовательности COI позволяет однозначно определить видовую принадлежность исследуемого образца. Нами были подобраны видоспецифичные маркеры (Rasmussen и соавт., 2010), которые позволили в ходе ПЦР-анализа установить, а также подтвердить видовую принадлежность более 40 образцов продукции из красной рыбы, различающихся по способу обработки исследуемой ткани и типу биологического материала. Разработка технологии идентификации видов лососевых в составе рыбной продукции водного промысла и аквакультуры позволит проводить генетическую экспертизу для установления видовой принадлежности рыб семейства Лососевых и продуктов из них, в том числе красной икры, что позволит выявлять фальсифицированную продукцию и защищать интересы потребителей.

Работа выполнена в рамках мероприятия 21 «Разработать и внедрить технологию генетической идентификации растительных и лососевых видов рыб» подпрограммы I «Инновационные биотехнологии — 2020» ГП «Наукоемкие технологии и техника» на 2016—2020 годы.

* * *

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, ФУНКЦИОНИРУЮЩИХ В КЛЕТКАХ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА И ВОВЛЕЧЕННЫХ В АТЕРОГЕНЕЗ ПРИ РАЗЛИЧНОМ СОДЕРЖАНИИ ХОЛЕСТЕРИНА ЛИПОПРОТЕИНОВ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ

Е.В. Носова¹, В.Г. Дмитриева¹, А.В. Рожкова¹, А.Д. Дергунов², Д.Ю. Литвинов², Л.В. Дергунова¹

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва;

²ФГБУ «НМИЦ профилактической медицины» Минздрава России, 101990, Москва; e-mail: el.nosova94@mail.ru

В целях изучения молекулярных основ патогенеза атеросклероза проведено сравнительное исследование уровня мРНК 41 гена, участвующих в метаболизме липидов, дегрануляции тромбоцитов и развитии воспалительной реакции в мононуклеарных клетках крови пациентов с повышенным содержанием холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС-ЛВП) ($n=9$) и группы с его пониженным содержанием ($n=10$). В клетках крови пациентов с повышенным содержанием ХС-ЛВП методом ПЦР в реальном времени обнаружено значимое снижение уровня мРНК *ITGB3*, кодирующего рецептор, участвующий в реакции свертывания крови и формировании атеросклеротической бляшки. Также выявлено снижение уровня мРНК гена *TLR8*, обеспечивающего индукцию провоспалительных цитокинов, и гена *CYBA*, кодирующего цитохром b-245 — важный компонент НАДФН-оксидазы, участвующих в образовании реактивных форм кислорода в сосудах. Содержание мРНК гена секреторного ингибитора протеиназы лейкоцитов (*SLPI*), обладающего противовоспалительной активностью, напротив, возрастало. Нами об-

наружено снижение уровня экспрессии гена *SREBF1*, кодирующего транскрипционный фактор ЛНП-рецептора (*LDLR*), что согласуется с выявленным ранее снижением уровня мРНК *LDLR*. Одновременно у пациентов с повышенным содержанием ХС-ЛВП обнаружено значимое повышение содержания мРНК рецептора окисленных ЛНП (*OLRI*), способствующего их захвату и накоплению. Полученные данные об экспрессии генов *ITGB3*, *TLR8*, *CYBA*, *SLPI* свидетельствуют об уменьшении роли воспалительного компонента атерогенеза у пациентов с повышенным содержанием ХС-ЛВП. Однако реципрокное изменение экспрессии генов *OLRI* и *LDLR* может говорить об инициации проатерогенных процессов у пациентов данной группы через другие сигнальные пути.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-04-00217 и Программы Президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий».

* * *

СИСТЕМА ДЛЯ ПОИСКА БЕЛКОВ-ПАРТНЕРОВ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ В КЛЕТКАХ *DEINOCOCCUS RADIODURANS*

А.В. Олина, А.А. Агапов, Д.М. Есюнина, А.В. Кульбачинский

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Москва, 123182, Россия; e-mail: anya2olina2@gmail.com, mailto:tussi@list.ru

Транскрипция является ключевым этапом регуляции экспрессии генов у бактерий. У стрессоустойчивой бактерии *Deinococcus radiodurans* профиль экспрессии генов значительно изменяется в условиях стресса. Однако транскрипционные факторы, ассоциированные с РНК-полимеразой в клетках *D. radiodurans*, только начинают исследоваться. Для поиска потенциальных белков-партнеров РНК-полимеразы *D. radiodurans* нами разработана система выделения РНК-полимеразы в комплексе с ассоциированными факторами из клеток *D. radiodurans*. Для этого получен штамм *D. radiodurans*, кодирующий бета'-субъединицу РНК-полимеразы с гистидиновым тагом на С-конце. Выделение РНК-полимеразы из клеток данного штамма осуществляется в одну стадию путем аффинной хроматографии. Мы выделяем РНК-полимеразу из клеток *D. radiodurans*, выращенных как в оптимальных условиях, так и при воздействии стрессовых факторов (перекиси водорода, ультрафиолетового и гамма-излучения). Это позволит проанализировать белки, со-выделяющиеся с РНК-полимеразой в разных условиях, при помощи масс-спектрометрии.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-34-00905.

* * *

МЕХАНИЗМ УЗНАВАНИЯ ПРОМОТОРА НЕВИРИОННОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ БАКТЕРИОФАГА ϕ HKZ

М.М. Орехова, М.В. Якунина

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: m.m.orekhova@gmail.com

Неканоническая многосубъединичная невирионная РНК-полимераза (нвРНКП) бактериофага ϕ HKZ транс-

крибирует поздние гены фага. В экспериментах с двуцепочечными ДНК-матрицами определено, что для транскрипции важна каждая пара нуклеотидов в консенсусной последовательности TATG, где G является точкой старта транскрипции (ТСТ — +1). Область после ТСТ также необходима для транскрипции. На матрицах с неспаренными основаниями в области консенсуса была показана важность Т в (–1) положении нематричной нити промотора. В экспериментах с вилочковыми матрицами (область до ТСТ представлена в одонитевой форме) показано, что нвРНКП абсолютно необходима матричная нить ДНК промоторной области для транскрипции. При этом замена консенсусных нуклеотидов с –3 по –1 на матричной нити не оказывает значительного влияния на транскрипцию с вилочковых матриц. Также с помощью вилочковых матриц показано, что область перед консенсусной последовательностью участвует в определении ТСТ. Комплексы нвРНКП с промоторами менее устойчивы к воздействию неспецифического конкурента гепарина, чем комплексы бактериальной РНКП-сигма70. Комплексы бактериальной РНКП-сигма70 с ДНК стабилизируются за счет самопроизвольной изомеризации закрытого транскрипционного комплекса в открытый. Вероятно, меньшая устойчивость промотор-нвРНКП комплексов говорит об отсутствии самопроизвольного образования стабильного открытого комплекса.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №17-74-10220).

* * *

СВЯЗЬ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПРОМОТОРОВ *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM*

М.А. Орлов¹, И.А. Гаранина², Г.Ю. Фисунов², А.А. Сорокин¹

¹Институт биофизики клетки РАН, Пушкино, Московская область;

²Федеральный Научно-клинический Центр физико-химической медицины ФМБА, Москва; e-mail: orlovmikhaianat@gmail.com

Mycoplasma gallisepticum является внутриклеточным паразитом, вызывающим заболевания дыхательной системы птиц. Для этой бактерии характерна динамичная регуляция транскрипции на фоне редукции большинства факторов транскрипции (TFs). В избегании *M. gallisepticum* бактерией иммунного ответа хозяина участвует семейство генов варибельного липопротеина-гемагглютинина (variable lipoprotein hemagglutinin, vHhA). Промоторы этих генов содержат в upstream-области участок тринуклеотидных повторов GAA на расстоянии примерно 40 пар оснований от точки старта транскрипции (ТСТ). Показано, что такие промоторы активны в присутствии ровно 12 повторов тринуклеотида GAA. Можно предположить, что лежащий в основе этого механизм определяют физико-химические свойства промоторных областей ДНК. В данной работе при анализе нуклеотидной последовательности промоторов vHhA помимо области GAA-повторов выявлены консервативные последовательности, фланкирующие эту область с обоих концов. Рассмотрение физико-химических свойств дуплекса показало, что не относящиеся к генам семейства vHhA промоторы имеют максимумы профилей SIDD в

upstream-области, в то время как промоторы *vHhA* демонстрируют несущественную дестабилизацию. Профили динамических характеристик открытых состояний и электростатического потенциала промоторов *vHhA*, в отличие от группы сравнения, содержат характерные паттерны. Таким образом, удалось показать сложный характер связи нуклеотидной последовательности промоторов *M. gallispeticum* с их функционированием и предполагаемую роль физико-химических характеристик ДНК в этом явлении.

* * *

ОСОБЕННОСТИ МИКРОЭВОЛЮЦИИ АНТИМОР (*ANTIMORA* spp., MORIDAE, GADIFORMES) ПО ДАННЫМ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ

С.Ю. Орлова¹, А.М. Орлов^{1, 2, 3, 4, 5}

¹Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, 107140, Москва, Россия;

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071, Москва, Россия;

³Дагестанский государственный университет, Махачкала, 367000, Россия;

⁴Томский государственный университет, Томск, 634050, Россия;

⁵Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского научного центра РАН, Махачкала, 367000, Россия; e-mail: kordicheva@rambler.ru

Род *Antimora* (Moridae) представлен двумя видами — мелкочешуйной *A. microlepis* и кловорылой *A. rostrata* антимиорами. Географическое распространение первой охватывает только северную часть Тихого океана, последний вид встречается практически повсеместно за исключением Северной Пацифики. До сих пор генетические исследования антимиор касались только кловорылой и ограничивались отдельными районами ее ареала (Ouyarzun и соавт., 1995; Roa-Varóna, Ortí, 2009; Smith и соавт., 2011; White и соавт., 2011). Данное сообщение основано на анализе 7 выборок *A. microlepis* (186 образцов) и 11 выборок *A. rostrata* (270 образцов) по гену *COI*. В выборках первого вида обнаружен 41 гаплотип, в том числе 28 уникальных (отмеченных только у одной особи), в выборках второго — 102 гаплотипа, включая 74 уникальных. Для обоих видов общими оказались 3 гаплотипа: гаплотип H2 обнаружен в выборке *A. microlepis* из вод Императорского хребта и Гаваев и в большинстве выборок *A. rostrata*, гаплотип H3 — в большинстве выборок *A. microlepis* и выборках *A. rostrata* из вод Австралии и Новой Зеландии, гаплотип H37 — в выборке *A. microlepis* из вод Императорского хребта и Гаваев и в выборках *A. rostrata* из моря Скоша и вод Фолклендских о-вов. Полученные данные позволяют сформулировать гипотезу расселения антимиор в Мировом океане.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №16-04-00516.

* * *

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ МАКАК РЕЗУС (*MACACA MULATTA*) АДЛЕРСКОГО ПРИМАТОЛОГИЧЕСКОГО ЦЕНТРА ПО ПОЛИМОРФИЗМУ ГЕНА *OPRM1*

Л.Е. Павлова¹, М.Ф. Тимина¹, А.В. Шмалий¹, Г.А. Янус², Е.Н. Имянитов²

¹ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии», Сочи, 354376, Россия;

²ФГБНУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова», Санкт-Петербург, 197758, Россия; e-mail: pavlova_laura@mail.ru

Согласно результатам семейных и близнецовых исследований, общий вклад наследственных факторов в развитие алкогольной зависимости достигает 50–60%. При этом данные литературы о вкладе каждого отдельного гена в развитие алкоголизма остаются противоречивыми. Благодаря генетическому сходству с людьми приматы могут быть успешно использованы для систематизации молекулярно-генетических предикторов алкогольной зависимости. У макак резус известен однонуклеотидный полиморфизм (SNP) гена *OPRM1* (rs195917455) C77G, функционально идентичный SNP A118G μ -опиоидного рецептора человека (rs1799971). Считается, что рецептор, кодируемый G аллелью, обладает в 3 раза большей аффинностью к бета-эндорфину и, возможно, влияет на эффективность терапии при алкоголизме антагонистами опиоидных рецепторов. Цель исследования — проведение генотипирования макак резус по полиморфному варианту гена *OPRM1*. Забор венозной крови произведен у 10 клинически здоровых самцов макак резус (*Macaca mulatta*) в возрасте 6–9 лет, содержащихся в питомнике ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии». Экстракция нуклеиновых кислот проведена стандартным сорбентным методом. Для создания тест-системы ПЦР выполнен подбор аллель-специфичных праймеров к геномной ДНК макак резус. Подобран оптимальный температурный профиль для лучшей дискриминации аллелей по гену *OPRM1*. Секвенирование продуктов амплификации подтвердило специфичность тестируемого в ПЦР фрагмента ДНК. В результате генотипирования методом аллель-специфической ПЦР у 5 животных идентифицирован полиморфизм μ -опиоидного рецептора по G аллели гена *OPRM1*, что указывает на наличие данного полиморфизма в популяции питомника. Таким образом, отобранная популяция приматов-носителей данного полиморфизма может быть использована в доклинической оценке средств лечения алкогольной зависимости.

* * *

ОЦЕНКА КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ ЯРОВОГО ОВСА НА УСТОЙЧИВОСТЬ К РАСПРОСТРАНЕННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ В ЗОНЕ СЕВЕРНОГО ЗАУРАЛЬЯ

О.А. Пай, М.Н. Фомина, Ю.С. Иванова

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северного Зауралья — филиал Федерального государственного учреждения науки Федерального исследовательского центра Тюменского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, Тюмень; e-mail: ola92ola@mail.ru

Проведена оценка исходного материала ярового овса в условиях северной лесостепи Тюменской области, по по-

левой устойчивости к распространенным заболеваниям в зоне Северного Зауралья: пыльной головне (*Ustilago avenae* (Pers.) Jens), корончатой ржавчине (*Puccinia coronifera* Kleb.), красно-бурой пятнистости (*Drechslera avenae* Ito). Объектами исследования послужили 73 коллекционных образца овса различного эколого-географического происхождения, полученных из ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» (ВИР) и 30 перспективных селекционных линий, созданных в НИИСХ Северного Зауралья. В качестве стандарта использовали возделываемый в регионе сорт Талисман. Анализ устойчивости 108 образцов овса в 3-кратной повторности позволил выделить более 90 (94,6%) сортов, устойчивых к пыльной головне. Размах варьирования по восприимчивости сортов к патогену был значительным (0—74%). Высокую устойчивость к возбудителю корончатой ржавчины проявили сорта Российской Федерации, зарубежной селекции и перспективных линии Северного Зауралья. Размах варьирования составил от 0 (К-14572, К-14887, ТМ 04-36-18, ТМ 08-179-9 и др.) до 35,0% (К-14755, К-14758). Интенсивность поражения листьев красно-бурой пятнистостью (*Drechslera avenae* Ito) в среднем на растении овса варьировала от 0 (К-6529, ТМ 08-140-2) до 37% (К-14292, К-14755).

* * *

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ В КЛЕТКАХ КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА В РАЗНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ⁶⁰СО

Д.В. Петрова¹, Н.А. Кошлань¹, Р.Д. Говорун¹, П. Блага^{1, 2}, Ю.В. Богданова¹, И.В. Кошлань^{1, 3}

¹Объединенный Институт ядерных исследований, Дубна, Московская область;

²Чешский технический университет в Праге, Прага, Чехия;

³Государственный университет «Дубна», Дубна, Московская область; e-mail: edv@mail.ru

В Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ исследовано действие γ -излучения ⁶⁰Со (2 и 5 Гр) на клетки китайского хомячка линии V79. Цитогенетический анализ хромосомных aberrаций проводили в разные сроки после облучения (от 3 ч до 40 сут). Показано, что максимальный выход клеток с хромосомными aberrациями наблюдается в первые часы после облучения и достигает 60%. В отдаленные сроки выявлено снижение этого показателя до контрольного значения (7% клеток с aberrациями).

* * *

ДЕЙСТВИЕ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМАМИ, НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ *copA*, *arsR* И *zntA*, ИНДУЦИРУЕМЫХ В ОТВЕТ НА ПРИСУТСТВИЕ В СРЕДЕ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И МЫШЬЯКА

В.А. Плюта¹, О.Е. Мелькина², Д.Е. Сидорова¹, Г.Б. Завильгельский², И.А. Хмель¹

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, Россия;

²ФГБУ «ГосНИИгенетика» НИЦ «Курчатовский институт», 117545, Москва, Россия; e-mail: plyutaba@gmail.com

Многие микроорганизмы продуцируют летучие органические соединения (ЛОС), выполняющие различные функции и играющие важную роль в межвидовой коммуникации организмов. Было показано, что ЛОС могут проявлять антимикробную активность и служить одним из факторов межвидовой борьбы. О механизмах действия многих летучих веществ в настоящий момент известно мало. В данной работе исследовано действие ЛОС на экспрессию генов *copA*, *arsR* и *zntA*, индуцируемых в клетках *Escherichia coli* в ответ на присутствие в среде ионов тяжелых металлов (Cu^{2+} , Zn^{2+}) и мышьяка (As^{3+}) (продукты указанных генов участвуют в защите клеток от токсичных концентраций этих соединений). Для оценки влияния ЛОС на экспрессию генов были использованы специфические *lux*-биосенсоры — клетки *E. coli* MG1655, несущие плазмиды с репортером промоном и клонированными промоторами генов *copA*, *arsR* и *zntA*. Степень экспрессии с соответствующих промоторов определялась по интенсивности биолюминесценции сенсора. Показано, что исследуемые ЛОС (диметилдисульфид и кетоны 2-ундеканон, 2-нонанон, 2-гептанон, ацетон) не активируют экспрессию генов *copA*, *arsR* и *zntA*. Только действие 2-пентанона приводит к активации экспрессии люциферазных генов, находящихся под контролем индуцируемого промотора гена *zntA*. Наблюдается уменьшение степени экспрессии генов *copA*, *arsR* и *zntA* при совместном действии ЛОС с водными растворами солей Cu^{2+} , Zn^{2+} , As^{3+} по сравнению с контролем (действие CuSO_4 , ZnSO_4 или NaAsO_2 без ЛОС). Обсуждаются возможные механизмы влияния ЛОС на регуляторные белки и проницаемость клеточных мембран для ионов тяжелых металлов и мышьяка.

Работа частично финансировалась грантами РФФИ № 18-34-00396-мол_а, 18-04-00375-а и 19-04-00495-а.

* * *

ПОПУЛЯЦИОННАЯ ГЕНЕТИКА ОСЕТРОВЫХ В РЕКАХ СИБИРИ

М.А. Побединцева¹, А.И. Макунин¹, И.Г. Кичигин¹,
Н.А. Сердюкова¹, Е.А. Интересова^{2, 3},
В.А. Заделенов⁴, А.А. Юрченко⁵, Д.Ю. Шербаков⁶,
А.С. Графодатский¹, В.А. Трифонов¹

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия;

²Новосибирское отделение государственного научно-производственного центра рыбного хозяйства ФГБНУ Госрыбцентр, Новосибирск, Россия;

³Томский государственный университет, Томск, Россия;

⁴ФГБНУ «Научно-исследовательский институт экологии рыбохозяйственных водоемов», Красноярск, Россия;

⁵Центр Геномной Биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург, Россия;

⁶Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия; e-mail: marob@mcb.nsc.ru

Популяционная генетика позволяет ответить на вопросы, связанные с эволюцией и демографической историей видов. Осетрообразные (Acipenseriformes) — древнейший отряд класса Лучеперых рыб, в реках Сибири представлен стерлядью (*Acipenser ruthenus*) и сибирским осетром (*A. baerii*). Осетровые чрезвычайно уязвимы к воздействию разнообразных факторов, препятствующих их естественному воспроизводству. В настоящее время филогения осетровых остается противоречивой, существуют проблемы с идентификацией отдельных видов, а также поднимаются вопросы о выделении подвидов внутри вида. Цель работы — оценка генетического разнообразия осетровых в реках Сибири по последовательности контрольного района митохондриальной ДНК, а также выяснение филогенетических отношений между основными гаплогруппами обоих видов, основанное на анализе полных митохондриальных геномов. В ходе работы собрана коллекция материала представителей двух видов осетровых, обитающих в Сибири. Оценено генетическое разнообразие обоих видов в бассейнах рек Сибири. Показана изоляция популяций обоих видов в разных речных бассейнах. Оценено время расхождения основных гаплогрупп внутри обоих видов. Сравнение популяционных характеристик двух видов показало более уязвимый статус вида *A. baerii*. Впервые установлены филогенетические взаимоотношения между основными гаплогруппами стерляди и сибирского осетра по последовательностям полных митохондриальных геномов.

Работа поддержана грантом РФФ №18-44-04007.

ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА MUTYH

В.А. Полтораченко¹, А.В. Юдкина², Д.О. Жарков²,
А.В. Макарова¹

¹ФГБНУ Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, Россия;

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, Россия; e-mail: amakarova-img@yandex.ru

Мисматч-специфическая ДНК-гликозилаза MUTYH узнает аденин в паре с 8-охо-G и удаляет неповрежденное основание, предотвращая закрепление мутаций. Наруше-

ние репарационной активности MUTYH связано с развитием наследственного рака прямой кишки (MUTYH-ассоциированный семейный аденоматозный полипоз). Исследования MUTYH человека затруднены сложностью получения очищенных препаратов фермента (опубликованы лишь частично очищенные препараты MUTYH человека с низкой концентрацией белка). Для получения продуцента MUTYH человека был использован штамм *E. coli* Rosetta2. Клетки выращивали в 6 литрах среды YT, после индукции экспрессии продукцию белка проводили при 18 °С. Выделение белка MUTYH, слитого на N-конце с GST-тагом, осуществляли с помощью аффинной хроматографии на сорбенте глутатитон-сефароза. Был получен высококонцентрированный препарат MUTYH высокой степени чистоты. Однако значительная часть белка (около 40%) была протеолизирована. С помощью масс-спектрометрии сайт протеолиза был локализован в области остатка Thr338. Показано, что препарат, содержащий смесь полноразмерного и укороченного белков MUTYH, обладает специфической репарационной активностью по отщеплению аденина из пары 8-охо-G:A, но не отщепляет аденин из пары G:A.

Работа поддержана грантом РФФИ-комфи 17-00-00265 (К) (17-00-00264 А.В.М. и 17-00-00261. Д.О.Ж.).

ХАРАКТЕРИСТИКА ОПУХОЛЕЙ ТРЕХ АЛЛОГРАФТНЫХ МОДЕЛЕЙ МЫШИ ПО ЭКСПРЕССИИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ СТРОМА-СПЕЦИФИЧНЫХ ГЕНОВ

А.В. Полуконова, Д.А. Дидыч, Е.Д. Свердлов

ФГБНУ Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, Москва, Россия; e-mail: polukonova.av@gmail.com

Опухоль-ассоциированные фибробласты (ОАФ) представляют собой один из основных компонентов микроокружения большинства солидных опухолей и принимают участие в процессах, связанных с прогрессией опухоли. ОАФ обладают высокой гетерогенностью, поэтому для характеристики их отдельных популяций актуален поиск ОАФ-специфичных генов. В данной работе на основе данных литературы мы выбрали группу строма-ассоциированных генов, содержащую, наряду со стандартными, несколько потенциальных ОАФ-специфичных генов, и провели анализ их экспрессии в опухолевых образцах трех аллогraftных моделей мыши с помощью ОТ-ПЦР в реальном времени. В работе были использованы образцы тотальной мРНК, выделенные из подкожно привитых опухолей мыши, полученных с использованием раковых линий СТ26 (карцинома толстой кишки), С26 (карцинома толстой кишки) и Pan02/Panc02 (протоковая аденокарцинома поджелудочной железы). В качестве контрольных использовали образцы мРНК, выделенные из соответствующих линий раковых клеток, культивируемых *in vitro*. В данной работе мы выявили гены, экспрессия которых отсутствует или незначительна в раковых клетках *in vitro*, но при этом хорошо детектируется в опухолях *in vivo*. Результаты работы подтверждают стромальную специфичность экспрессии большинства рассмотренных генов. Полученные данные об экспрессии исследованных генов позволяют предположить, что опухоль Pan02 обладает более выраженным стромальным компонентом, по сравнению с опухолями СТ26 и С26. В дальнейшем экс-

прессия рассмотренных генов будет проанализирована на отдельных популяциях ОАФ, выделенных из опухолей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №17-00-00190.

БЕЛОК-БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С УЧАСТИЕМ FTSZ В КЛЕТКАХ МИКОПЛАЗМ

Е.В. Пономарева^{1, 2}, А.А. Ведяйкин^{1, 2},
И.Е. Вишняков², М.А. Ходорковский¹

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, 195251;

²Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064;
e-mail: 39_smooth@mail.ru

Микоплазмы являются важными патогенами растений, животных и человека, поэтому их изучение имеет большой практический интерес. Известно, что многие микоплазмы имеют ген *ftsZ*, кодирующий ключевой белок бактериального деления. Подавляющее большинство знаний о структуре и функции белков FtsZ получено при исследовании *Escherichia coli* и нескольких других модельных микроорганизмов. Основной ролью FtsZ в *E. coli* считают привлечение в сайт деления других белков, участвующих в цитокинезе, в особенности ферментов, связанных с ремоделированием клеточной стенки. Предполагается, что белок FtsZ участвует и в процессе деления микоплазм, хотя с учетом того, что в микоплазмах отсутствует клеточная стенка, не вполне ясен механизм вовлечения FtsZ в этот процесс. Принимая во внимание, что FtsZ считается перспективной мишенью для новых антибиотиков, блокирующих процесс деления бактерий, представляется важным разобраться в роли белка FtsZ в микоплазмах. В данной работе использовали методы ко-иммунопреципитации и со-осаждения (pull-down анализ). Удалось установить, что FtsZ в клетках микоплазм взаимодействует с рядом белков, среди которых идентифицированы фактор элонгации трансляции EFTu, молекулярный шаперон DnaK, а также другие белки. Среди белков-партнеров FtsZ микоплазм не удалось обнаружить других известных гомологов белков деления, что может говорить об отличии роли белка FtsZ в клетках микоплазм от хорошо изученных микроорганизмов. Планируется исследование межбелковых взаимодействий с участием FtsZ микоплазм с использованием других методов.

Работа поддержана Российским научным фондом, проект 17-74-20065.

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ COI И 12S ДЛЯ УТОЧНЕНИЯ ФИЛОГЕНИИ ГРУППЫ ВИДОВ *PARDOSA LUGUBRIS*

Е.А. Прописцова, Т.В. Галинская

Кафедра энтомологии, Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, Москва 119234 Россия;
e-mail: evgenya.jeny@yandex.ru, nuha1313@gmail.com

Род пауков *Pardosa* C.L. Koch, 1847 является самым большим родом семейства Lycosidae (Araneae). Он включает 533 вида (Platnick, 2014), голарктические пауки делятся на 30 групп видов (Zuuzin, 1979; Dondale & Redner, 1990). В 2000 г. группа *P. lugubris* была выделена из группы *P. amentata* на ос-

нования различий в окраске ног и карапакса, брачного поведения самцов, различия в строении эпигин самок (Töpfer-Hofmann и соавт., 2000). На данный момент группа *P. lugubris* включает 7 видов: *P. alacris* (C.L. Koch, 1833), *P. baehrorum* (Kronstedt, 1999), *P. caucasica* (Ovtsharenko, 1979), *P. lugubris* (Walckenaer, 1802), *P. pertinax* (Helvesen, 2000), *P. koponeni* (Nadolny и соавт., 2016) и *P. saltans* (Töpfer-Hofmann, 2000). Предполагается, что 5 видов обитает в Европе, *P. koponeni* в Восточной Азии и только *P. lugubris* распространена по всей транспалеарктике (Platnick, 2014; World Spider Catalog, 2015; Nadolny и соавт., 2016). Морфологически самки группы видов *P. lugubris* (Walckenaer, 1802) практически неразличимы между собой, в то время как самцы различаются по брачному поведению (Vlček, 1995), строению медиального апофиза и цвету цимбиума (Roberts, 1998; Kronstedt, 1999; Töpfer-Hofmann и соавт., 2000). Генетические исследования этой группы показывают монофилетичность рода, но разные виды часто формируют одну кладу, результаты анализов часто неоднозначны (Murphy и соавт., 2006; Nadolny и соавт., 2016). Показана эффективность использования гена COI для идентификации пауков до вида (Barrett, R.D.H. & Hebert, P.D.N., 2005), в связи с чем мы решили применить его как один из маркеров для уточнения филогении групп видов данного рода. ДНК выделяли методом кипячения (Galinskaya и соавт., 2016) из ноги паука, затем проводили ПЦР, используя праймеры для двух генов: 12S, праймеры 12S-bi, 12St-L (Murphy и соавт., 2006) и COI, праймеры C1-J-2123, C1-N-2776 (Vidgar и соавт., 2014), а также впервые подобранные нами праймеры COX1-F, COX1-R. Очистка ПЦР-продукта производилась переосаждением, секвенирование на ABI Prism 3500 (Applied Biosystems, the United States). Для сравнения взяли пауков из группы *Pardosa pullata* (*P. riparia*, *P. sphagnicola*), в качестве аут-группы использовали пауков рода *Alopecosa*. Мы доказали эффективность использования метода кипячения для выделения ДНК у пауков, синтезировали новую пару праймеров для амплификации COI гена у пауков. ПЦР с подобранными нами праймерами дает стабильные успешные результаты. В ходе отработки методик выделения ДНК у пауков рода *Pardosa* мы пришли к выводу, что наиболее эффективным методом является выделение кипячением (Galinskaya и соавт., 2016), поскольку при выделении набором ДНК Diatom prep 100 фирмы Изоген или методом CCDB DNA Extraction, после ПЦР было мало продукта, что свидетельствует о маленькой концентрации матричной ДНК. Синтезированная нами пара праймеров показала свою эффективность, используя полученные сиквенсы, удалось построить филогенетическое древо.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АКТИВНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ НА ЭКСПАНСИЮ ПОВТОРОВ В МОДЕЛЬНЫХ ЛИНИЯХ КЛЕТОК

Я.В. Пурвиньш, И.В. Грищенко

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора;
e-mail: purvinsh_yav@vector.nsc.ru

Экспансия тринуклеотидных повторов — резкое увеличение числа копий внутригенных последовательностей ДНК, является одной из форм нестабильности генома. Синдром ломкой X-хромосомы — одно из распространенных заболеваний, развитие которого вызывает данная мутация. Экспансия (ЦГГ)_n повторов в 5'-UTR гена *FMR1* приводит к гиперметилированию промотора и прекраще-

нию экспрессии данного гена. Вследствие этого перестает нарабатываться белок FMRP — РНК-связывающий полипептид, ответственный за нормальную дифференцировку и функционирование нейронов. Механизм экспансии повторов остается неизвестным, а заболевания, связанные с экспансией повторов, неизлечимыми. Экспансия повторов во время репарации ДНК является одной из гипотез возникновения данной мутации. Для аллелей гена *FMR1* было показано, что уровень транскрипции значительно выше в аллелях с увеличенным повтором. Эти данные указывают на то, что репарация, ассоциированная с транскрипцией, вероятно, является одной из причин экспансии. Цель нашей работы — создание молекулярной модели повтора (ЦГГ)_n нормальной длины и исследование его экспансии при активной транскрипции в иммортализованных В-лимфоцитах пациентов с синдромом ломкой X-хромосомы с помощью вектора, несущего соответствующую конструкцию. В ходе работы был сконструирован ДНК-вектор, содержащий вставку ЦГГ-повторов, была проверена его работоспособность и проведена трансфекция клеточных линий иммортализованных В-лимфоцитов пациентов с синдромом ломкой X-хромосомы и здорового контроля, а также исследовано изменение длины ЦГГ-повтора в векторе при активной транскрипции с течением времени.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-34-00336.

ПОИСК НОВЫХ ФС ДЛЯ ФДТ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СРЕДИ ДИМЕРНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ХЛОРОФИЛЛА А

**Я.И. Пылина¹, Д.М. Шадрин¹, Е.С. Белых¹,
И.О. Велегжанинов¹, О.М. Старцева², Д.В. Белых²**

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, 167982, Республика Коми, Россия;

²Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Сыктывкар, 167000. Республика Коми, Россия; e-mail: yanapylina@yandex.ru

Известно, что некоторые производные хлорофилла *a* применяют в медицине в качестве фотосенсибилизаторов (ФС) для фотодинамической терапии (ФДТ) онкологических заболеваний. Цель работы — поиск и изучение молекулярно-клеточных механизмов действия перспективных агентов для ФДТ онкологических заболеваний среди новых димерных производных хлорофилла *a* с фрагментами олигоэтиленгликолей в качестве спейсеров между макроциклами. Проведенный анализ темновой и фотоиндуцированной цитотоксической активности 15 новых димерных производных хлорофилла *a* на линиях раковых клеток HeLa, A549 и нормальных фибробластах легких эмбриона человека ФЛЭЧ-104 позволил выявить наиболее перспективные соединения. На примере форбин-хлоринового димера с триэтиленгликолем в качестве спейсера между макроциклами показано, что под воздействием света данное соединение не оказывает генотоксического эффекта на опухолевые клетки, что свидетельствует о том, что клеточное ядро не является мишенью его воздействия. Анализ экспрессии генов в ответ на фотоиндуцированное воздействие данного агента на опухолевые клетки показал повышение экспрессии гена проапоптозного лиганда *TNFSF10*, а также повышение экс-

прессии генов *SOD2* и *GSR* системы антиоксидантной защиты, активирующихся при окислительных стрессах.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00002.

ВЛИЯНИЕ ИНСУЛЯТОРНОГО КОМПЛЕКСА GYPSY НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ РІРНК КЛАСТЕРОВ В ГЕРМИНАЛЬНЫХ ТКАНЯХ DROSOPHILA

**Е.И. Радион, С.С. Рязанский, С.И. Глухов,
Ю.А. Абрамов, А.И. Калмыкова**

ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук, 123182 Москва, Россия; e-mail: radion-radion.90@mail.ru

рiРНК (Piwi interacting RNAs), участвующие в подавлении экспрессии ретротранспозонов в герминальных тканях, образуются из длинных односторонних предшественников, считываемых с особых локусов генома — кластеров рiРНК. рiРНК кластеры обогащены фрагментами мобильных элементов и располагаются преимущественно в гетерохроматиновых областях генома. В герминальных тканях *Drosophila* активными являются двунитевые рiРНК кластеры, в которых транскрибируются обе геномные цепи. Для продукции рiРНК важна целостная структура хроматина рiРНК кластеров. Хроматин таких локусов обогащен гетерохроматиновыми факторами HP1 и H3K9me3, а также герминально-специфичным гомологом HP1 — белком Rhino. Мобильные элементы, входящие в состав кластеров, содержат различные регуляторные элементы, в том числе инсуляторные последовательности, которые являются платформами для сборки мультибелковых комплексов, способных блокировать распространение окружающего гетерохроматина. Однако неизвестно, каково влияние инсуляторного комплекса на функционирование двунитевых рiРНК кластеров. С помощью транскрипционной системы, содержащей сайты связывания инсуляторного белка *gypsy* SuHw, мы показали, что сборка инсуляторного комплекса внутри рiРНК кластера негативно влияет на транскрипцию рiРНК-предшественников, биогенез рiРНК и ассоциацию с хроматином кластеров белков Rhino, HP1 и H3K9me3. Эти данные показывают, что формирование инсуляторных комплексов опережает сборку хроматина, характерного для рiРНК кластеров, и нарушает их функциональную целостность.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01107 А.

ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ПОВЫШЕНИЕ ПРЕДСТАВЛЕННОСТИ ФРАГМЕНТОВ ГЕНА *EGFR*, СОДЕРЖАЩИХ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ МУТАЦИИ, НА ФОНЕ ИЗБЫТКА ДНК «ДИКОГО ТИПА»

**Д.А. Родионова, М.Д. Чанышев, К.А. Благодатских,
А.П. Коваль, Д.С. Шербо**

ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, Москва, Россия; e-mail: alekseevna.dari@gmail.com

При онкологических заболеваниях в крови содержится свободная внеклеточная ДНК, часть которой попадает в кровоток из опухолевых клеток (цДНК). В ряде работ проде-

монстрирована возможность определения наличия соматических опухолевых мутаций во фракции цоДНК. Одним из актуальных применений такого подхода, получившего название «жидкостная биопсия», на сегодняшний день является выявление активирующих соматических мутаций в гене EGFR, служащих важным предиктивным маркером при назначении таргетной терапии немелкоклеточного рака легких. При этом фракция молекул, содержащих исследуемые мутации, может быть незначительна на фоне ДНК «дикого типа», что повышает требования к чувствительности метода детекции. Поэтому актуальными подходы, позволяющие выявлять в образце даже низкопредставленные мутации. Благодаря свойству дуплекс-специфической нуклеазы (ДСН) избирательно гидролизовать полностью комплементарные ДНК-дуплексы становится возможным значительно снизить содержание ДНК «дикого типа» в пробе, сохраняя фрагменты ДНК, несущие мутации. Возможность такого применения ДСН проверяли на модельных образцах ДНК, выделенной из клеточной линии, и на образцах цоДНК из плазмы крови. Были исследованы фрагменты гена EGFR в районе «горячих точек» в экзонах 19 и 21. После обработки ДСН в присутствии зондов, комплементарных ДНК «дикого типа», детекцию мутаций проводили с помощью ПЦР и секвенирования по Сэнгеру. В результате в пробах, обработанных ДСН, представленность мутантных фрагментов ДНК повышалась, что во многих случаях делало возможным их определение с помощью секвенирования по Сэнгеру. В перспективе такой подход может быть использован для выявления низкопредставленных мутаций с помощью общепринятых лабораторных методов.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

ИССЛЕДОВАНИЕ СВИНЬИ ДОМАШНЕЙ С ПОМОЩЬЮ РАСШИРЕННОЙ ПАНЕЛИ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ДЛЯ АНАЛИЗА ДОСТОВЕРНОСТИ ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Е.А. Романишко

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Республика Беларусь; e-mail: LenaRamanishko@mail.ru

Во многих странах для идентификации и контроля происхождения сельскохозяйственных животных применяют микросателлитные локусы, рекомендованные Международным обществом генетики животных (ISAG). Согласно Закону «О племенном деле в животноводстве», в Республике Беларусь племенная продукция подлежит обязательной генетической экспертизе. По результатам проведения генетической экспертизы выдается генетический сертификат. Цель работы — исследование свиньи домашней, с помощью расширенной панели микросателлитных локусов для анализа достоверности происхождения животных. В качестве объекта исследования мы использовали животных породы ландрас, йоркшир и белорусская крупная белая. Выделение ДНК проводили с помощью набора реагентов «Нуклеосорб» («Праймтех», Беларусь). Количество ДНК было нормализовано с помощью QFX Fluorometer («DeNovix», США) с использованием набора реагентов DeNovix dsDNA Broad Range kit. Анализ микросателлитов проводили на генетическом анализаторе 3500 («Applied Biosystems», США) относительно стандарта S 450 («Синтол», Россия). Для исследования

генофонда свиней с помощью микросателлитных локусов была разработана тест-система включающая основную панель: состоящие из следующих микросателлитных локусов: SW24, SO155, SO002, SW951, IGF-1, SW240, SW857, SO225, SW0101, SW936, SO228 и дополнительную панель, состоящую из следующих локусов: SO005, SO355, SO228, SO227, SW632, SW911, SO226. Были получены данные по ранее не исследованным локусам SO005, SO002, SO227, SO226, SW632, IGF-1. В исследованной выборке число аллелей варьировало в пределах — от 4 до 9 аллелей на локус. Среднее число аллелей на локус $5,22 \pm 0,3$. Ожидаемая гетерозиготность варьировала от 0,3871 до 0,7393. Проведена оценка породной принадлежности животных по критерию Q.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРЫ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

П.И. Селина, М.П. Рошина, Д.Р. Сафина

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, Россия; e-mail: greenapple_35@mail.ru, mailto:tussi@list.ru

В настоящее время активно развивается направление, связанное с созданием минимизированных генетических конструкций с оптимальными показателями функционирования для работы в эукариотических системах. Но на сегодняшний день эффективность функционирования минимизированных экспрессионных векторов оценена недостаточно. Нами проведен анализ эффективности функционирования различных генетических конструкций, которые содержали кольцевой плазмидный вектор и линейные векторы, в том числе вектор на основе ПЦР-амплификата. Исследования проводили на моделях разных уровней: культуре клеток НЕК293 и эмбрионах рыбы *Danio rerio*. В качестве целевого гена использовали маркерный ген модифицированного зеленого флуоресцентного белка (*EGFP*) под контролем промотора ранних генов цитомегаловируса человека. Введение ДНК в клетки НЕК293 проводили при использовании коммерческого трансфицирующего агента TurboFect. Инъекцию генетического материала в эмбрионы *Danio rerio* осуществляли на стадии первого деления дробления в желточную область. Биоимиджинг инъекцированных объектов осуществляли в течение двух недель. Показана высокая функциональная эффективность минимизированной экспрессионной генетической конструкции на основе ПЦР-амплификата как на клеточном, так и на организменном уровне.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №18-04-00319, №17-00-00189, Программ Президиума РАН: «Молекулярная и клеточная биология» и «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий».

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПЕРЕДАЧИ РЕГУЛЯТОРНЫХ СИГНАЛОВ ОТ TOR-КИНАЗЫ К ГЕНАМ МЕТАБОЛИЗМА МЕТАНОЛА У ДРОЖЖЕЙ *PICNIA PASTORIS*

А.В. Сидорин, А.М. Румянцев

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, 199034, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: antonsidorin@list.ru

Дрожжи *Pichia pastoris* являются широко применяемой в биотехнологии системой гетерологической экспрессии генов. Одно из преимуществ этих дрожжей заключается в наличии сильных промоторов генов метаболизма метанола (*MUT*-генов), в частности гена *AOX1*. В связи с практической значимостью этих генов их регуляция активно изучается. Было показано, что регуляция промотора гена *AOX1* зависит от активности Тог-киназы. Цель данной работы — изучение механизмов передачи сигнала от Тог-киназы, которые обеспечивают координированную регуляцию *MUT*-генов. Белок Mxr1, который является ключевым активатором промотора гена *AOX1*, регулируется другим белком из семейства 14-3-3 за счет фосфорилирования. В ходе работы была получена плаزمид, содержащая последовательность гена *MXR1*, в которую с помощью сайт-направленного мутагенеза была внесена замена, приводящая к нарушению сайта фосфорилирования. Данной конструкцией был трансформирован штамм *P. pastoris*, что приводило к замене последовательности *MXR1* дикого типа на последовательность, кодирующую белок с нарушенным сайтом фосфорилирования. Далее полученные штаммы трансформировали плазмидой, содержащей репортерный ген кислой фосфатазы *RHO5* под контролем промотора гена *AOX1*. Полученная репортерная система позволяет оценить участие белков Mxr1 и 14-3-3 в передаче сигнала от Тог-киназы за счет измерения активности промотора гена *AOX1* в различных условиях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-34-00750 мол_а.

ТОЧНОСТЬ КЛАСТЕРИЗАЦИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕТОДА HRM (HIGH RESOLUTION MELTING) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЗНИЦЫ ТЕМПЕРАТУРЫ ПЛАВЛЕНИЯ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ АЛЛЕЛЕЙ

Е.В. Снытков¹, Е.Г. Смирнова¹, В.Н. Кипень², С.Б. Мельнов¹

¹УО «Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова» БГУ, 220070, Минск, Республика Беларусь, e-mail: evsnytkov@gmail.com

²ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», 220072, Минск, Республика Беларусь, e-mail: slavakipen@rambler.ru

Метод высокоразрешающего плавления ДНК (High resolution melting, HRM) широко используется в молекулярной генетике ввиду его относительной простоты реализации. Цель данного исследования — оценить дифференцирующий потенциал двух наборов для генотипирования методом HRM — qPCR GreenMaster («Jena Bioscience», Германия) и Precision Melt Supermix («Bio-Rad», США) — в зависимости от разницы температуры плавления альтернативных аллелей (в диапазоне рассчитанных T_m 0,25–0,89 °C). Генотипирование по трем полиморфным вариантам rs7590720, rs2273500, rs4356203 проводилось с использованием наборов qPCR GreenMaster и Precision Melt Supermix согласно рекомендациям производителей на приборе CFX96 Touch. Валидация генотипов была проведена с использованием ПЦР-ПДРФ. Разница в T_m для rs2273500 в среднем на 1,7 °C оказалась меньше при использовании Precision Melt Supermix, для rs7590720 — на 1,9 °C, для rs4356203 — 2,0 °C, чем при использовании qPCR GreenMaster. Результаты кластеризации также имели выра-

женную тенденцию — при возрастании T_m diff результаты кластеризации для обоих наборов для HRM-анализа приобретали одинаковое распределение: для rs2273500 совпадение было отмечено лишь в 21,4% случаев (15/70), для rs7590720 — в 83,9% (58/70), для rs4356203 — в 100% (70/70). Средний уровень RFU не отличался в зависимости от набора. Точность кластеризации была не ниже 99,0%. Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что исследователь, использующий в своей практике HRM-анализ, должен исходить из тех соображений, чтобы, во-первых, в процессе моделирования праймеров сделать вклад исследуемого полиморфизма в общий уровень T_m наиболее существенным, и, во-вторых, подтверждать результаты кластеризации дополнительной проверкой с использованием альтернативных методов, например, ПЦР-ПДРФ.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРНЫХ СИСТЕМ В КЛЕТКАХ ПОДКОРКОВЫХ СТРУКТУР И ЛОБНО-ТЕМЕННОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

В.В. Ставчанский¹, И.Б. Филиппенков¹, А.Е. Денисова², Л.В. Дергунова^{1,2}

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, 117997, Москва, Россия; e-mail: bacbac@yandex.ru

Церебральная ишемия относится к числу наиболее распространенных причин нарушения функции мозга. Анализ транскриптома является одним из новых подходов к изучению функционирования мозга в норме и при ишемии, а также применяется для разработки новых стратегий лечения ишемического инсульта. Мы использовали модель обратной церебральной ишемии у крыс (tMCAO), которая наиболее часто используется при изучении нейропротекции. Модель основана на внутрисосудистой окклюзии правой средней мозговой артерии в течение 90 мин с последующей реперфузией. RNA-Seq анализ экспрессии генов показал, что спустя сутки после tMCAO в подкорковых структурах мозга крыс, содержащих очаг повреждения, ишемия преимущественно подавляет экспрессию генов, участвующих в функционировании систем нейросигнализации. Среди них гены белка синаптического везикулярного транспорта (*Cplx2*), рецепторов дофамина (*Drd1*), серотонина (*Htr6*), глутамата (*Grm3*, *Grm5*), ацетилхолина (*Chrm1*, *Chrm4*) и другие. Использование ПЦР в реальном времени позволило выявить схожие изменения экспрессии генов спустя сутки после tMCAO в лобно-теменной коре, взятой со стороны повреждения, но вместе с тем было зафиксировано значительное подавление экспрессии генов *Drd1*, *Chrm1*, *Grm3* и *Cplx2* в аналогичных участках мозга крыс после ложной операции. Таким образом, в лобно-теменной коре генетические ответы, связанные с нейросигнализацией, вызваны не только развитием ишемического повреждения, но, вероятно, являются сложной комбинацией эффектов, включая реакцию на стресс.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №16-14-00077.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЕНА *TRIM14* НА ПОВЕДЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ И ТРАНСКРИПЦИЮ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ НЕЙРОТРОФИНЫ

Е.А. Степаненко¹, А.Д. Вовк¹, М.В. Рекунова¹, Д.Ю. Побережный¹, И.В. Макарова², Н.А. Шербатова², Л.Е. Андреева², Д.Д. Марков², В.В. Ненашева², В.З. Тарангул²

¹Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, 125047, Москва, Россия;

²ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук, 123182, Москва, Россия; e-mail: katishsha@mail.ru

Белок *TRIM14* относится к семейству TRIM белков, которые участвуют во многих важных физиологических процессах в клетке, включая нейрогенез и иммунитет. Ранее нами было установлено, что повышенная экспрессия гена *TRIM14* человека подавляет нейрональную дифференцировку эмбриональных стволовых клеток мыши, а ингибирование экспрессии эндогенного *Trim14* приводит к усилению этой дифференцировки (Novosadova и соавт., 2012). Также мы показали, что количество мРНК и белка TRIM14 понижается при дифференцировке индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в терминально дифференцированные нейроны (Nenasheva и соавт., 2017). Мы предполагаем, что белок TRIM14, как и некоторые другие белки TRIM семейства, может участвовать в процессах центральной нервной системы (ЦНС). Для определения роли TRIM14 в функционировании ЦНС мы использовали трансгенных мышей, экспрессирующих ген *TRIM14* человека, которые были получены в нашей лаборатории (две линии). Поведенческую активность животных оценивали в тесте Порсолта (принудительное плавание), который показал, что у мышей трансгенной линии с более высокой экспрессией трансгена выше уровень тревожности и эмоциональной реактивности, а также ниже способность к адаптации в стрессогенных условиях по сравнению с животными дикого типа. В гиппокампе трансгенных мышей уровень мРНК *Ngf*, *Nt3*, *Gdnf* резко снижен у животных обеих линий по сравнению с контрольными животными. После теста Порсолта происходило резкое увеличение транскрипции этих факторов в гиппокампе мышей обеих трансгенных линий при ее уменьшении у контрольных животных. Таким образом, в своей работе на модели трансгенных мышей мы показали, что ген *TRIM14*, по-видимому, активно участвует в функционировании ЦНС.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-04-00733, НИР №01201355481.

АНАЛИЗ ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ МЕДИАТОРОВ ВОСПАЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Я.Р. Тимашева^{1,2}, В.В. Эрдман², Т.Р. Насибуллин², И.А. Туктарова², О.Е. Мустафина²

¹Башкирский государственный медицинский университет, 450000, Уфа, Россия;

²Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, 450054, Уфа, Россия; e-mail: ianina_t@mail.ru

Артериальная гипертензия является основным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, патогенез которого связан с воспалением и дисфункцией эндотелия. Наша цель состояла в изучении роли медиаторов воспаления в развитии эссенциальной гипертензии (ЭГ) и определении особенностей экспрессии генов у лиц с повышенной выживаемостью (80 лет и старше). Мы провели анализ профилей экспрессии генов в лейкоцитах периферической крови 30 пациентов с ЭГ и 32 здоровых лиц в возрасте от 30 до 60 лет, а также 12 человек в возрасте от 82 до 113 лет (6 пациентов с ЭГ, 6 лиц группы контроля) с использованием RT² Profiler PCR Array (Qiagen, США). В группе пациентов с ЭГ среднего возраста мы обнаружили измененную транскрипционную активность 21 гена. Проведение количественного анализа позволило подтвердить значительные различия в уровнях экспрессии генов *CX3CR1* (FC, fold change, 29.2), *CXCL13* (FC=13,8), *IL1F6* (FC=12,9), *CD40LG* (FC=8), *CXCL1* (FC=7,2). У пожилых пациентов с ЭГ повышена экспрессия генов *NFKB1* (FC=3,21) и *IL18R1* (FC=2,41), и снижена экспрессия генов *CCL5*, *CFS1*, *2,3*, *CD4*, *RPLP0*, *BCL2*, *SRC*, *IL15*, *CD40LG*, *CDKN1A*, *MYC*. Анализ ассоциаций с ЭГ полиморфных вариантов исследуемых генов в группе пациентов с ЭГ и практически здоровых лиц в возрасте от 30 до 108 лет позволил выявить ассоциацию с ЭГ аллеля rs355689*С гена *CXCL13* (OR=0,61, $P_{\text{Bonf}}=5*10^{-4}$). Результаты исследования свидетельствуют о дифференциальной экспрессии генов медиаторов воспаления у пациентов с ЭГ различных возрастных групп.

РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ПЦР С ГИБРИДИЗАЦИОННО-ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ ДЕТЕКЦИИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ ПАРВОВИРУСА В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

М.Ф. Тимина, А.В. Шмалий, Л.Е. Павлова, А.А. Агумава

ФГБНУ «НИИ медицинской приматологии», 354376, Сочи, Россия; e-mail: free_marshmallows@mail.ru

Парвовирус распространен среди домашних и производственных плотоядных животных, и заболевание инфекцией может привести к летальному исходу для неиммунизированных животных. Поэтому важна своевременная и достоверная диагностика парвовирусных инфекций. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) является методом диагностики широкого использования, но не лишена недостатков. Цель исследования — разработка и оптимизация тест-системы ПЦР для диагностики парвовируса плотоядных. В ходе работы для улучшения экстракции нуклеиновых кислот был модифицирован стандартный сорбентный метод. При создании тест-системы проведено множественное выравнивание полногеномных сиквенсов ста штаммов парвовирусов плотоядных для поиска консенсусных участков геномов. К выбранным участкам в дальнейшем подбирали праймеры и зонд, строго гомологичные исключительно с геномом парвовирусов плотоядных, что обеспечило высокую специфичность ПЦР. Оптимизированы концентрация реагентов (праймеры, зонд, дезоксирибонуклеотид, полимеразы, ионы магния и т.д.) и температурный профиль реакции амплификации. Проведено сравнение разработанной тест-системы с коммерческой тест-системой фирмы Вектор-Бест. В результате исследова-

ния оптимизирован метод экстракции, позволяющий без потери качества сократить время пробподготовки на 20%. Разработана собственная тест-система ПЦР с технологией TaqMan для детекции парвовируса плотоядных, в два раза превосходящая коммерческую тест-систему фирмы Вектор-Бест по чувствительности (значение порогового цикла ниже на 1,3 единицы) и соотношению уровня сигнал/шум.

РАСШИРЕНИЕ ЗНАНИЙ О РАЗНООБРАЗИИ МАГНИТОТАКТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ ПОСРЕДСТВОМ АНАЛИЗА МЕТАГЕНОМНЫХ ДАННЫХ

М. Узун^{1, 2}, Л.М. Алексеева^{1, 2}, М.С. Круткина¹, В.В. Козяева¹, Д.С. Груздев¹

¹ФИЦ биотехнологии РАН, 119071, Москва, Россия;

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 119991, Москва, Россия; e-mail: uzunmasha@gmail.com

Магнитотактические бактерии (МТБ) — группа бактерий, отличительной особенностью которых является способность к синтезу наноразмерных кристаллов магнетита (Fe_3O_4) или грейгита (Fe_3S_4), покрытых липопротеиновой мембраной. Такие органеллы получили название магнетосомы, а их синтез в клетках МТБ контролируется генетически совокупностью оперонов, получившей название «Магнетосомный Геномный Остров» (МГО). Он кодирует синтез Мат-белков, не присутствующих в других клеточных органеллах. Несмотря на 50-летнее изучение МТБ, знания о процессе биоминерализации магнетосом до сих пор остаются неполными в силу небольшого количества модельных организмов. Так, известно всего около 60 геномов МТБ, филогенетически принадлежащих к *Proteobacteria*, *Nitrospirae*, *Omnitrophica*, *Planctomycetes* и *Latescibacteria*. В настоящем исследовании было проанализировано 61410 бактериальных геномов и 10587 метагеномных данных из водных, наземных, симбионтных и антропогенных экосистем из базы данных IMG для обнаружения МТБ. В качестве маркерного белка для BLAST-анализа использовали МатК. В результате был найден 301 МатК из 139 метагеномов. Биннинг обнаруженных метагеномов осуществлялся при помощи программы DAS Tool. Для бинов, содержащих МатК, определялась филогенетическая принадлежность, и были собраны их МГО. В результате были найдены новые МТБ различных таксономических рангов, что существенно увеличило базу организмов для дальнейшей реконструкции эволюционных путей МГО и расширения знаний о процессах биоминерализации магнетосом.

Работа выполнена при поддержке программы РАН «Наноструктуры: физика, химия, «Основы биологии, технологии» и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

РОЛЬ ЦИКЛОРНК-МИКРОРНК-МРНК ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

И.Б. Филиппенков¹, В.В. Ставчанский¹, А.Е. Денисова², Н.С. Ионов², Л.В. Дергунова^{1, 2}

¹ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ, 117997, Москва, Россия; e-mail: filippenkov@img.ras.ru

Ишемический инсульт мозга относится к числу наиболее тяжелых и социально значимых заболеваний. На сегодняшний день в патогенезе и терапии ишемического инсульта большое внимание уделяется изучению роли РНК. В реакции транскриптома на ишемию участвуют не только информационные мРНК, но и различные типы некодирующих РНК. В частности, циклические РНК (циклоРНК) могут взаимодействовать с микроРНК, негативно влияющими на экспрессию многих мРНК, и нивелировать их активность. ЦиклоРНК имеют замкнутую структуру, устойчивую к воздействию экзонуклеаз, и демонстрируют преимущественный мозгоспецифический характер экспрессии у млекопитающих. В данной работе нами применена модель обратимой ишемии мозга у крыс (tMCAO), основанная на окклюзии правой средней мозговой артерии монофиламентом в течение 90 мин с последующей реперфузией. Через 24 ч после tMCAO мы проанализировали изменение уровня мРНК, микроРНК и циклоРНК в мозге ишемизированных крыс относительно ложнопериорированных животных с помощью полногеномного RNA-Seq-анализа. Нами были выявлены 713 мРНК, 407 микроРНК и 72 циклоРНК, дифференциально представленных в зоне повреждения в условиях tMCAO. Биоинформатический анализ выявил значительное количество сайтов связывания микроРНК в последовательностях циклоРНК и мРНК, изменивших свою экспрессию при ишемии. В результате проделанной работы были выявлены гены и РНК, являющиеся потенциальными маркерами в диагностике и мишенями в терапии ишемического инсульта. Дальнейший анализ циклоРНК-микроРНК-мРНК взаимодействий может заложить основу для выяснения механизмов повреждения и восстановления при церебральной ишемии.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №17-74-10189.

ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ И ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) ПО АЛЛЕЛЬНОМУ СОСТАВУ ГЕНОВ НМВ ГЛЮТЕНИНОВ

Е.А. Фомина

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Республика Беларусь; e-mail: e.fomina@igc.by

Качество хлеба, производимого из гексаплоидных сортов пшеницы, — это сложный признак, который зависит от многих факторов. Однако гидрофобные белки глютенины вносят значительный вклад в эластичность и вязкость теста. Нами исследован аллельный состав генов, кодирующих глютенины, в коллекции, состоящей из 236 образцов озимой и 98 образцов яровой пшеницы белорусской и

зарубежной селекции. Выявлено 13 аллелей среди образцов озимой пшеницы и 11 — среди образцов яровой пшеницы. Среди исследованных образцов выявлено 36 различных генотипов. Наиболее часто среди образцов озимой пшеницы встречаются сорта и линии, обладающие генотипами *Glu-A1c*, *Glu-B1c*, *Glu-D1d* (16,2% от общего количества исследованных образцов), *Glu-A1a*, *Glu-B1c*, *Glu-D1d* (13,7%), *Glu-A1b*, *Glu-B1c*, *Glu-D1d* (12,7%), а среди образцов яровой пшеницы — генотипами *Glu-A1a*, *Glu-B1c*, *Glu-D1d* (22,5%), *Glu-A1a*, *Glu-B1c*, *Glu-D1a* (16,4%), *Glu-A1c*, *Glu-B1f*, *Glu-D1d* (13,3%). В геноме линии яровой пшеницы КП-406/11 обнаружен аллель гена, кодирующего первичную структуру *Vx*-субъединицы, максимальная степень идентичности которого относительно представленных в базе данных GenBank нуклеотидных последовательностей *Vx*-субъединиц составила 99%. Он содержит открытую рамку считывания длиной 2367 п.н. и имеет наибольшую степень идентичности с нуклеотидной последовательностью субъединицы *Vx14*. Аминокислотная последовательность длиной 789, кодируемая данным аллелем, отличается от *Vx14* заменами аминокислотных остатков в трех позициях — 662, 780 и 788. Он получил название *Vx14.1* (номер доступа в Genbank MN108092).

* * *

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРВИЧНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ЭКЗОНОВ И СРГ-ОСТРОВКОВ В ГЕНЕ *BDNF* У КРЫС С ГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Д.А.-А. Хлебаева, Т.Г. Зачепило, Н.А. Дюжикова

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: dibair@yandex.ru

Нейротрофический фактор мозга (Brain-derived neurotrophic factor — BDNF) — один из наиболее изученных нейротрофинов. Изменения экспрессии гена *Bdnf* и нарушения его эпигенетической регуляции в разных структурах мозга показаны при стресс-зависимых патологических состояниях. Влияние наследственно обусловленных различий в уровне возбудимости нервной системы (НС) на эти процессы не исследовалось. Цель исследования — определить первичную последовательность экзонов и СРГ-островков в гене *Bdnf* у крыс с генетически детерминированным различным уровнем возбудимости НС (ВП — высокий порог возбудимости, НП — низкий). Из гиппокампа крыс выделяли ДНК протеиназным методом. Проводили ПЦР, ПЦР-продукты секвенировали по Сэнгеру (Евроген). В последовательности (Gene ID: 24225) были определены 24 СРГ-богатых региона (от 50 п.н.) в гене и промоторной области (1280 п.н. до начала гена) (EMBOSS CpGplot). Для секвенирования использовали 3 фрагмента ДНК в положениях — 1280—3560 п.н., 18150—20381 п.н., 46923—50574 п.н. от точки начала транскрипции (включающие 20 СРГ-регионов, 7 5'-нетранслируемых экзонов и 1 3'-кодирующий экзон). Полученные данные способствуют пониманию структурных особенностей гена *Bdnf* у крыс линий с контрастной возбудимостью НС для дальнейшего исследования изменений его экспрессии и эпигенетической регуляции под влиянием психоэмоционального стресса.

* * *

РЕГУЛЯЦИЯ SOS-ОТВЕТА БАКТЕРИЙ ПРОТЕАЛИЗИНОМ

О.А. Цапина¹, С.Ю. Хайтлина¹, Т.О. Артамонова², Д.М. Байтин³, И.В. Бахланова³

¹Институт цитологии РАН, 194064, Санкт-Петербург, Россия;

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, 195251, Санкт-Петербург, Россия;

³НИИ «Курчатовский институт» — Петербургский институт ядерной физики, 188300, Гатчина, Россия; e-mail: olga566@mail.ru

В ответ на серьезные повреждения ДНК бактерии запускают каскад защитных реакций — SOS-ответ. SOS-ответ может запускаться в ответ на контакт бактерий с эпителиальными клетками, продуцирующими повреждающие ДНК агенты для защиты от бактериальной инфекции. Условно-патогенные бактерии *Serratia proteamaculans* способны проникать в цитоплазму клеток эукариот, что коррелирует с активностью актин-специфической протеазы протеализин. Задачей настоящей работы было оценить возможную роль регуляции SOS-ответа протеализином во время инвазии. Мы показали, что трансформация бактерий *E. coli* плазмидой, несущей ген протеализина, приводит к уменьшению выживаемости бактерий при облучении ультрафиолетом, что может указывать на снижении уровня SOS-ответа. По данным масс-спектрометрии, протеализин расщепляет стрессовые белки: шаперон GroEL и очищенный белок SOS-ответа RecA, что приводит к потере способности RecA образовывать полимеры. Мы показали, что *S. proteamaculans* экспрессируют RecA и шаперон GroEL конститутивно, и контакт с клеткой-хозяином не влияет на уровень их экспрессии, как это было, например, показано для бактерий *Listeria*, которые экспрессируют RecA только в ответ на контакт с клеткой-хозяином. Таким образом, протеализин может регулировать количество белков SOS ответа RecA и GroEL, и способствовать инвазии, ускоряя прохождение репликативной вилки.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-04-00558.

* * *

ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОСЕТРОВЫХ РЫБ (ACIPENSERIDAE)

А.И. Царь, А.Ю. Носова

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 220072, Минск, Республика Беларусь; e-mail: A.Tsar@igc.by

Осетровые — реликтовая группа рыб с длительной эволюционной историей, которая подпадает под Конвенцию о международной торговле видами дикой фауны и флоры, находящимися под угрозой исчезновения (CITES). Установление легальности происхождения продукции из осетровых невозможно без точной идентификации вида на всех стадиях развития особей — от икры до взрослого организма, а также продуктов питания из них (мясо, балык, пищевая икра и т.п.). Существенное различие в цене разных представителей осетровых и их гибридов делает генетические исследования видовой принадлежности продуктов питания актуальными для защиты интересов потребителя. Кроме того, для адекватной селекционной работы в условиях аквакультуры необходимо знать чистоту (гибридность) разводимой рыбы. В настоящее время наиболее достоверно позволяют идентифицировать продукцию из осетровых молекулярно-генетические методы анализа ядерной и митохондриальной ДНК

(мтДНК). Нами изучены образцы пищевой продукции и биоматериал стерляди (*Acipenser ruthenus*), белуги (*Huso huso*), бестера (*Huso huso* × *Acipenser ruthenus*), стероса (*Acipenser ruthenus* × *Acipenser gueldenstaedtii*) и стербела (*Acipenser ruthenus* × *Huso huso*). В качестве негативного контроля были использованы образцы сибирского и ленского осетров, а также их гибрида. Исследование с использованием специфичных маркеров 247_Agp/247_uni, 247_ARn/247_uni, 153_HNp/153_uni, 153_HNp/153_uni к ядерной последовательности, обнаруженной в референсном контиге №140238 для стерляди и референсном контиге №216845 для белуги (Havelka и соавт., 2017), позволяет однозначно определить видовую принадлежность исследуемого образца. ПЦР-анализ подтвердил, что два образца относятся к белуге, два — к стерляди, один к бестеру и один к стербелу. Было также определено, что один образец, заявленный как белуга, оказался бестером. Таким образом, данное исследование позволяет отделить «чистых» представителей стерляди и белуги от их коммерческих гибридов и продуктов из них, что невозможно при анализе специфичных участков мтДНК, которые наследуются только по материнской линии.

АНАЛИЗ ПРОГРЕССИИ МФТП-ИНДУЦИРОВАННОГО ПАРКИНСОНИЧЕСКОГО СИНДРОМА

К.Д. Чапров¹, Е.В. Тетерина^{1,2}

¹Институт физиологически активных веществ Российской академии наук, 142432, Черноголовка, Россия;

²Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Томск, Россия; e-mail: chapkir@gmail.com

Болезнь Паркинсона (БП) — распространенное нейродегенеративное заболевание, характеризующееся поражением структур экстрапирамидной системы, преимущественно черной субстанции (ЧС), потерей дофаминергических (ДА) нейронов и наличием в них телец Леви. Одним из наиболее распространенных методов индукции симптомов БП является введение нейротоксина 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП), который обладает селективной токсичностью по отношению к ДА нейронам ЧС. Истощение пула ДА нейронов ведет к нарушению кортикального контроля сложных движений, и развитию симптомов БП: брадикинезии, семенящей походки, тремору. Нашей целью было отработать анализ нарушений двигательной функции в установке CatWalk у мышей линии C57BL при моделировании МФТП-индуцированного паркинсонического синдрома. Внутрибрюшинное введение МФТП осуществлялось в течение 5 дней в дозе 30 мг/кг МФТП в сутки. Исследование двигательной функции животных проводили с помощью технологии Illuminated Footprints™ на установке CatWalk (Noldus, Нидерланды) через 21 день после завершения введения МФТП. Данная технология анализа походки позволяет регистрировать разницу в распределении давления и веса тела животного на четыре конечности во время ходьбы. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью Т-теста для зависимых наблюдений и критерия Манна—Уитни в программных пакетах GraphPad Prism 6 («GraphPad Software, Inc.», США). Анализ 200 детектируемых установкой CatWalk параметров показал наличие 50 статистически достоверных различий между показателями походки животных ди-

кого типа контрольной группы и группы МФТП, что может отражать скрытые признаки и динамику прогрессии хронической досимптомной стадии БП. В результате работы отработан протокол анализа данных для исследования прогрессии нарушения двигательной функции у мышей в токсической модели МФТП-индуцированного паркинсонического синдрома. Выявлено 50 параметров, показатели которых достоверно отражают нарушения двигательной функции у животных.

Исследование поддержано грантом РФФ 19-14-00064.

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ СЕНСОРОВ АМИНОКИСЛОТ В РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА МЕТАНОЛА У ДРОЖЖЕЙ *PICHA PASTORIS*

Н.И. Шараев, А.М. Румянцев

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: nikita_51s@mail.ru

Промоторы генов метаболизма метанола используются для гетерологической экспрессии в дрожжах *Pichia pastoris* и поэтому механизмы их регуляции активно изучаются. Было показано, что регуляция промотора гена алкогольоксидазы 1 (*AOX1*) зависит от наличия ряда аминокислот в среде, в частности пролина и глутамата. У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* сенсинг аминокислот опосредуется SPS-системой, основу которой составляют белки, кодируемые генами *SSY1*, *PTR3* и *SSY5*. Целями данной работы являлись поиск у *P. pastoris* генов SPS-комплекса и конструирование репортерной системы, которая позволит исследовать влияние сенсинга аминокислот на регуляцию экспрессии генов метаболизма метанола у этих дрожжей. В начале был проведен анализ генома *P. pastoris*, в ходе которого были выявлены гены *PpSSY1*, *PpPTR3* и *PpSSY5*, гомологичные соответствующим генам *S. cerevisiae*. Далее последовательность гена *PpSSY1*, кодирующего белок, непосредственно осуществляющий сенсорную функцию, была встроена в состав плазмиды *pPIC9-PCUP* таким образом, что она оказалась под контролем регулируемого промотора гена *CUP1*. Данной плазмидой был трансформирован штамм GS115 дрожжей *P. pastoris*. После этого в геном трансформантов была встроена конструкция *PAOX1-PHO5* на основе репортерного гена кислой фосфатазы. Полученный штамм позволяет измерять активность промотора гена *AOX1* на фоне сверхэкспрессии гена, кодирующего специфический сенсор аминокислот *PpSSY1*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-34-00750 мол_а.

РНФ10 — СУБЪЕДИНИЦА РЕМОДЕЛИРУЮЩЕГО ХРОМАТИН РВАФ КОМПЛЕКСА РЕГУЛИРУЕТСЯ КИНАЗАМИ R13K/AKT-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ

А.А. Шейнов¹, Е.В. Татарский¹, С.Г. Георгиева^{1,2}, Н.В. Сошникова¹

¹ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва, 119334, Россия;

²Институт молекулярной биологии РАН, Москва, 119991, Россия; e-mail: asheinov@gmail.com

Ремоделирующие комплексы играют важную роль в регуляции экспрессии генов при развитии организма. Ремо-

делирующие комплексы PBAF, семейства SWI/SNF, изменяют структуру хроматина, обеспечивая доступ транскрипционным факторам к регуляторным последовательностям генов. Регуляция работы комплексов осуществляется во многом за счет изменения субъединичного состава. Также субъединицы комплекса PBAF подвергаются посттрансляционным модификациям, которые влияют на функции всего комплекса. Одной из важных субъединиц PBAF комплекса является белок RNF10, определяющий взаимодействие PBAF комплекса с хроматином. RNF10 представлен в клетке четырьмя изоформами. Изоформы альтернативно включаются в PBAF комплекс и по-разному влияют на ремоделируемые комплексом гены. Мы показали, что все изоформы RNF10 значительно фосфорилированы. Каждая изоформа имеет уникальный паттерн фосфорилирования, зависящий от доменной структуры. В данной работе мы изучили паттерн фосфорилирования Y, характерный для изоформ RNF10, имеющих длинный N-концевой домен. Было показано, что множественное фосфорилирование Y-кластера определяется двумя ключевыми серинами и является триггерным. Данные серины входят в состав мотивов, узнающих Akt и ERK1/2 киназами FGF/EGF сигнального каскада. При мутации этих серинов происходит полное элиминирование множественного фосфорилирования Y-кластера. Нами была выявлена минимальная последовательность RNF10, подвергающаяся фосфорилированию, и показано, что в состав комплекса PBAF включаются максимально фосфорилированные изоформы RNF10. Таким образом, можно предположить, что фосфорилирование Y-кластера длинных изоформ RNF10 киназами Akt и ERK1/2 влияет на функционирование комплекса PBAF и регулирует его участие в активации генов в ответ на действие белков FGF/EGF сигнального каскада.

Данная работа поддержана грантом РФФИ 18-04-00885 А «Влияние фосфорилирования на регуляцию RNF10/BAF45a — субъединицы ремоделирующего хроматин комплекса PBAF млекопитающих».

* * *

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИИ РАСТЕНИЙ *PLANTAGO MEDIA* L. НА ЮЖНОМ ТИМАНЕ

М.А. Шелякин, И.Г. Захожий, Е.В. Силина, Я.И. Пылина, Д.М. Шадрин, И.Ф. Чадин, Т.К. Головкин

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Сыктывкар, 167982, Россия; e-mail: shelyakin@ib.komisc.ru

Растения рода *Plantago* известны своей уникальной пластичностью, что позволяет им адаптироваться к широкому спектру внешних условий. Однако вопрос, в какой мере долговременная структурно-функциональная адаптация к условиям среды связана с генетическими модификациями, остается до конца не выясненным. Результаты изучения подорожника среднего (*Plantago media* L.) из двух местообитаний (открытый склон и густой травостой) выявили существенные различия растений по габитусу, соотношению надземной и подземной части, площади и плотности листьев, содержанию в них зеленых пигментов, фенольных соединений, активности ксантофилло-

го цикла и ферментов антиоксидантной системы. Судя по морфологическим и функциональным показателям, растения на склоне адаптировались к действию избыточной инсоляции и водного дефицита. Величина нефотохимического тушения, отражающая диссипацию поглощенной световой энергии, в полуденные часы достигала предельных значений. Листья затененных растений реализовали большую часть поглощенной энергии в фотохимических процессах и отличались превалированием цитохромного над альтернативным путем митохондриального дыхания. Популяционный генетический анализ *P. media* с использованием межмикросателлитных маркеров (Intersimple sequence repeats — ISSR) позволил выявить два кластера, границы которых совпадают с границами между растениями из разных местообитаний. В отсутствие барьеров, препятствующих обмену генетической информацией, это можно объяснить отбором генотипа с преимуществами для выживания и размножения в конкретных условиях.

Работа выполнена в рамках темы НИР, номер ГР ААА-А-17-117033010038-7.

* * *

5'-ДЕЗОКСИРИБОФОСФАТ-ЛИАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ POL IOTA ЧЕЛОВЕКА

Е.С. Шилкин, А.В. Макарова

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, Россия; e-mail: shilkinevgeniy.chem@gmail.com

ДНК-полимераза йота (Pol ι) Y-семейства ДНК-полимераз относится к специализированным ДНК-полимеразам, осуществляющим синтез ДНК напротив поврежденных матричных оснований. Pol ι обладает дополнительной 5'-дезоксирибозофосфат (5'-дРФ)-лиазной активностью, необходимой на некоторых этапах эксцизионной репарации оснований (ЭРО). Предполагается, что Pol ι может принимать участие в ЭРО повреждений ДНК, возникающих при окислительном стрессе. Мы проанализировали влияние распространенных аминокислотных полиморфизмов, затрагивающих активный центр фермента, на 5'-дРФ-лиазную активность Pol ι человека: R71G, E251K и I236M. Белок дикого типа и полиморфный вариант I236M продемонстрировали одинаковый уровень 5'-дРФ-лиазной активности. Для полиморфного варианта E251K наблюдали умеренное увеличение 5'-дРФ-лиазной активности. Однако было показано, что способность к отщеплению 5'-дРФ-группы у формы R71G значительно снижена по сравнению с Pol ι дикого типа. Падение 5'-дРФ-лиазной активности коррелировало со снижением ДНК-полимеразной активности варианта R71G Pol ι, но не было вызвано снижением стабильности фермента. Полученные результаты позволяют предположить, что полиморфный вариант Pol ι с заменой R71G обладает сниженной репарационной активностью *in vivo*.

Работа поддержана грантом РФФИ-комфи 17-00-00264 и РФФИ-Бел-а 18-54-00024.

* * *

СОЗДАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОНСТРУКЦИИ, НЕСУЩЕЙ ГЕН ДЕГИДРИНА *TaDHN19 TRITICUM AESTIVUM*

А.М. Шишлова-Соколовская, П.В. Кузмицкая,
Е.П. Кветко, О.Ю. Урбанович

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, 220072, Республика Беларусь; e-mail: s_anastasia78@mail.ru

Растения на протяжении всего вегетационного периода подвергаются воздействию абиотических стрессовых факторов. Реакция растения на стресс приводит к функциональной перестройке метаболизма клетки и, как следствие, транскрипции генов, вовлеченных в стрессовый ответ. Среди них гены, кодирующие дегидрины — белки группы II суперсемейства LEA. Дегидрины главным образом локализируются в цитоплазме, ядрах клеток, митохондриях, хлоропластах, при этом место локализации данных белков не всегда известно. С целью изучения функции и локализации на разных стадиях онтогенеза при действии низких температур белка, кодируемого геном *TaDHN19* (по классификации Wang и соавт., 2014), была создана генетическая конструкция pB1121_ *TaDHN19/EGFP*. Данная конструкция содержит два отдельных гена *TaDhn19* и *EGFP* в одной транскрипционной рамке. В качестве источника для клонирования нативного гена *TaDHN19* был использован устойчивый к холоду сорт озимой пшеницы белорусской селекции Каравай. Соответствие гена ожидаемой последовательности подтверждено секвенированием. Ген *TaDhn19* был слит в единую рамку считывания с геном *EGFP* под контролем 35S-промотора и *nos*-терминатора. При этом между генами введена дополнительная последовательность из 7 аминокислотных остатков — «pro-gly-thr-gly-arg-pro-thr», стоп-кодон гена *TaDHN19* удален. Получен химерный ген, далее клонирован в бинарный вектор pB1121. Вставка данного гена подтверждена методом ПЦР. В дальнейшем планируется получить трансгенные растения табака, как модельный объект для изучения функции и локализации гена *TaDhn19* при гипотермии.

ВКЛАД СИСТЕМЫ РИРНК В РЕГУЛЯЦИЮ ТЕЛОМЕРНОГО РЕТРОЭЛЕМЕНТА *TART* В ГЕРМИНАЛЬНЫХ ТКАНЯХ *DROSOPHILA*

А.О. Шмитко, О.М. Оленкина, П.А. Комаров,
М.Ю. Кордюкова, Е.И. Радион, А.И. Калмыкова

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, Россия; e-mail: annashmi97@gmail.com

Теломеры *Drosophila* поддерживаются с помощью транспозиций особой группы теломерных ретротранспозонов — *HeT-A*, *TAHRE* и *TART*. Изучение регуляции экспрессии теломерных элементов необходимо для понимания механизмов поддержания длины теломера. В герминальных тканях *Drosophila* экспрессия теломерных элементов *HeT-A*, *TAHRE* и *TART* регулируется с помощью рiРНК сайленсинга, подавляющего активность мобильных элементов на уровне транскрипции. Нарушения работы данной системы приводят к гиперэкспрессии теломерных элементов, при этом наибольшая активация наблюдается для *HeT-A* и *TAHRE*, а экспрессия *TART* изменяется незначительно. Мы предполагаем, что, помимо системы рiРНК сайленсинга, активность *TART* регулируется другими механизмами. В данной работе мы изучали

вклад рiРНК системы в регуляцию экспрессии *TART*. Мы использовали трансгенные линии мух, содержащие репортерный ген *lacZ* под контролем промотора *TART* в прямой и обратной ориентациях. Известно, что в яичниках дрозофилы образуются рiРНК к обоим цепям *TART*, поэтому рiРНК-зависимый транскрипционный сайленсинг *lacZ* не должен зависеть от ориентации фрагмента *TART*. Однако мы показали зависимость экспрессии и структуры хроматина трансгена *TART-lacZ* от ориентации фрагмента *TART*. Было показано, что нарушения рiРНК системы приводят к накоплению бета-галактозидазы и снижению связывания гетерохроматинных белков HP1 и H3K9me3 с хроматином трансгенов только при обратной ориентации *TART*-вставки. Данные результаты свидетельствуют о том, что в прямой ориентации промотор *TART* защищен от воздействия рiРНК, возможно, с помощью пограничных элементов, природу которых и роль в функционировании теломер предстоит исследовать.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-34-00415 мол.а.

ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ МИКРОРНК С ПЕРВИЧНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ У МУЖЧИН И ЖЕНЩИН

Б.И. Ялаев¹, Р.И. Хусаинова^{1,2}

¹Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, 450054, Россия;

²ГБУЗ Республиканский медико-генетический центр, Уфа, 450076, Россия; e-mail: yalaev.bulat@yandex.ru

Остеопороз — одно из распространенных заболеваний, характеризующееся увеличением риска переломов костей, высокой долей смертности и инвалидизации, что представляет серьезный социально-экономический вызов современному обществу. Предполагается, что изменение сродства микроРНК к целевым генам может значительно влиять на регуляцию экспрессии последних, и, вероятно, играет роль в патогенезе остеопороза.

Цель исследования — поиск ассоциаций полиморфных локусов rs11540149, rs1061947, rs6854081, rs10793442, rs10098470, rs1712, rs1042673 и rs1054204 с наличием переломов и низким уровнем минеральной плотности костной ткани (МПКТ) в выборке мужчин (510 человек) и женщин в постменопаузе (740 человек).

Результаты. Аллель *А локуса rs11540149 оказался ассоциирован с переломами и низким уровнем МПКТ у мужчин, генотип *G*G локуса rs6854081 также оказался связан с переломами в общей выборке женщин и женщин татарского происхождения, аллель *Т локуса rs10098470 ассоциирован с переломами в общей выборке женщин, аллель *А локуса rs10793442 с остеопорозом и остеопенией в общей выборке женщин и генотип *G*G локуса rs1054204 с переломами и низким уровнем МПКТ в общей выборке мужчин. Аллели полиморфного локуса могут иметь сродство к разным микроРНК и их количеству, что может значительно отразиться на регуляции экспрессии гена. Наши результаты показывают, что такой эффект может различаться в зависимости от пола, и согласуются с гипотезой, согласной которой переломы и низкий уровень МПКТ представляют собой два независимых эндотипа.

Тезисы стендовых сообщений

ПРОБЛЕМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ АНТИЛИЗОЦИМНОЙ АКТИВНОСТИ И ЛИЗОЦИМРЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

С.В. Андрущенко, И.А. Здвижкова,
А.В. Бекперенова, Т.А. Семеновых,
О.И. Рахматулина

ФГБУН Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук, Оренбург, 460000, Россия; email: rattus000@gmail.com

Целостность наружной мембраны грамотрицательных бактерий обеспечивает полную устойчивость бактериальных клеток к бактерицидному действию лизоцима, вместе с тем, у энтеробактерий и ряда других протеобактерий выявляются как фенотипическая способность к дистантной инактивации лизоцима, так и генетические детерминанты двух независимых семейств специфических секретируемых ингибиторов лизоцима, а также лизоцимингибирующий эффект энтеротоксина. Вопрос о роли ингибиторов лизоцима в обеспечении устойчивости самих клеток-продуцентов дополняется вопросом об их эффекте для непосредственного микросимбиотического окружения энтеробактерий в условиях кишечного биотопа. Кроме того, различные методики фенотипического определения как лизоцимрезистентности, так и антилизоцимной активности грамотрицательных бактерий демонстрируют труднодоступные результаты. В данной работе проведена оценка влияния ряда компонентов питательных сред и условий культивирования для максимизации разрешающей способности фотометрического метода определения антилизоцимной активности энтеробактерий. На штаммах-носителях как плазмидного, так и хромосомного гомологов гена периплазматического ингибитора лизоцима *pliC*, принадлежащих к видам *Klebsiella pneumoniae* и *Salmonella enterica* соответственно, показано, что наибольшая эффективность ингибирования лизоцима культуральной средой достигается при культивировании энтеробактерий в бульонах с содержанием глюкозы до 15 г/л в течение 48 ч с последующей 1-часовой инкубацией во взвеси с хлороформом в объемном соотношении 9:1.

Работа выполнена при грантовой поддержке фундаментальных исследований по Программе УрО РАН «Фундаментальные науки — медицине», проект № 18-7-8-34 и Российского Фонда Фундаментальных Исследований по программе поддержки фундаментальных научных исследований, выполняемых молодыми учеными, проект №18-34-00853 мол_а.

ДЕТЕКЦИЯ МУТАЦИЙ ПРИ НЕСОВЕРШЕННОМ ОСТЕОГЕНЕЗЕ С ПОМОЩЬЮ ТАРГЕТНОГО МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

О.Ю. Васильева, С.А. Васильев, А.А. Зарубин,
Н.А. Скрябин

НИИ медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр, Томск, Россия, 634050; e-mail: vasilyeva.o.yu@gmail.com

Несовершенный остеогенез в 85% случаев вызывается мутациями с аутосомно-доминантным типом наследования в одном из двух генов, кодирующих коллаген I типа (*COL1A1*, *COL1A2*). При этом частых мутаций не обнаруживается, в связи с чем при молекулярной диагностике этого заболевания требуется секвенирование всех экзонов генов *COL1A1*, *COL1A2*. Для диагностики изучаемого заболевания был разработан метод таргетного массового параллельного секвенирования. В основе предлагаемого подхода лежит обогащение образцов с помощью ПЦР длинных фрагментов с последующим приготовлением ДНК-библиотек с использованием набора Nextera XT (Illumina), массовым параллельным секвенированием на секвенаторе MiSeq (Illumina) и дальнейшей биоинформационной обработкой данных. Для данного подхода отсутствие частых мутаций не является ограничением, поскольку анализируется вся последовательность экзонов и интронов генов *COL1A1* и *COL1A2*. Метод применили для поиска мутаций в генах *COL1A1* и *COL1A2* у пациентов с диагнозом несовершенный остеогенез. В результате проведенного анализа были обнаружены патогенные варианты у четырех обследуемых в гене *COL1A2*: замена G1000A у троих пациентов, *de novo* мутация G856A у одного больного. У троих обследуемых выявлены *de novo* мутации в гене *COL1A1*: замена 4274C>T, мутация 2172delT (приводящая к сдвигу рамки считывания), мутация в сайте сплайсинга 48 экзона с.3532-2A>C. Разработанный метод таргетного массового параллельного секвенирования позволяет идентифицировать мутации в генах *COL1A1* и *COL1A2* и является эффективным инструментом молекулярно-генетической диагностики несовершенного остеогенеза.

РОЛЬ DRRS, МАЛОЙ НЕКОДИРУЮЩЕЙ РНК *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*, В АДАПТАЦИИ К МАКРОФАГАЛЬНОМУ СТРЕССУ

А.С. Григоров¹, Е.Г. Салина², О.С. Быченко¹,
А.С. Капрельяну², Т.Л. Ажикина¹

¹ФГБУ НИИ биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997, Россия;

²ФГБУ НИИ биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071, Россия; e-mail: artgrigorov@gmail.com

Малые некодирующие РНК бактерий принимают участие в регуляции широкого спектра процессов, влияя на процессы транскрипции и трансляции. Предполагается, что межгенные малые РНК играют одну из центральных ролей в регуляции адаптивных механизмов *Mycobacterium tuberculosis*, возбудителя туберкулеза. Целью работы было исследование роли малой некодирующей РНК DrrS в метаболизме *M. tuberculosis*. Экспрессия этой малой РНК характерна для стационарной фазы роста, а также в условиях перехода микобактерий в состояние покоя. Также DrrS характеризуется высокой консервативностью, что указывает на ее роль в регуляции развития инфекции. Искусственное повышение экспрессии DrrS в клетке *M. tuberculosis* привело к появлению в транскрипционном профиле изменений, характерных для микобактериального ответа на макрофагальный стресс. Повышается экспрессия ряда регуляторов; генов, участвующих в защите от окислительного стресса; генов, связанных с метаболизмом азота и кластера PE/PPE белков. При этом наблюдается угнетение экспрессии генов биосинтеза аминокислот; генов, связанных с дыханием, и нескольких транскрипционных факторов. На основе изменений транскрипционного профиля можно предположить, что DrrS является активатором молекулярных механизмов, необходимых для выживания внутри макрофага. Анализ динамики экспрессии DrrS *ex vivo* показал, что экспрессия этой малой РНК возрастает только в условиях иммунного ответа, а главным триггером экспрессии является NO.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 18-15-00332.

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ КЛЕТОЧНЫХ И ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ПРОТЕАСОМ

Е.Е. Дьяконов¹, Т.О. Артамонова²,
М.А. Ходорковский², А.С. Цимоха¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064, Россия;

²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, 195251, Россия; e-mail: diakonov2007@mail.ru

26S-протеасома — мультисубъединичный эукариотический белковый комплекс, отвечающий за регулируемую убиквитин-зависимую деградацию белков. Повышенный уровень экспорта протеасом во внеклеточное пространство был выявлен при опухолевой трансформации клеток человека, однако функция внеклеточных протеасом остается неизвестной. Анализ внеклеточных протеасом по присутствию специфических посттрансляционных модификаций

(ПТМ) и их функциональной значимости в экспорте протеасом не проводился. В данной работе с помощью МАЛ-ДИ масс-спектрометрического анализа с преобразованием Фурье были впервые обнаружены фосфосайты S216 α4-субъединицы, S181 — β3, Y125 — β5, которые потенциально могут быть специфичны для внеклеточных протеасом. Также внеклеточные протеасомы могут иметь специфические сайты ацетилирования на сайтах K237, 238 субъединицы β2 и K192 — β3. Всего было найдено 95 ПТМ у внеклеточных, и 75 — у клеточных протеасом, среди которых также убиквитинирование и сукцинирование. Мы предполагаем, что специфические для внеклеточных протеасом ПТМ могут регулировать их активность или участвовать в транспорте комплексов во внеклеточное пространство, поэтому полученные данные могут быть существенны для определения функциональной значимости протеасом во внеклеточном пространстве.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (проект 16-14-10343).

АНАЛИЗ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ РНК У ПАТОГЕННОЙ БАКТЕРИИ *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Д.В. Игнатов¹, Б. Каллиполитис², Н. Фрейтаг³,
Й. Йоханссон¹

¹Университет Умео;

²Университет Южной Дании;

³Университет Иллинойса в Чикаго, США;
e-mail: dima.ignatov@gmail.com

Некодирующие РНК играют важную роль в регуляции экспрессии генов бактерий. Их механизм действия часто основывается на изменении пространственной структуры, взаимодействии с другими РНК или белками. Мы использовали метод Structure-seq для поиска молекул РНК, которые изменяют свою структуру в ответ на различные стимулы. Исследования проводились на модельной грамположительной бактерии *L. monocytogenes*. Так как регуляторные РНК часто располагаются в 5'-нетранслируемых областях молекул РНК (5'-НТО), мы модифицировали метод Structure-seq для увеличения глубины секвенирования этих регионов. 1) Сравнение структуры 5'-НТО при различных температурах позволило обнаружить новый РНК термометр, расположенный в 5'-НТО мРНК гена *cspA*. 2) Был проведен поиск молекул РНК, изменяющих свою структуру при делеции РНК шаперона Hfq. У некоторых видов бактерий Hfq играет ключевую роль при регуляции с помощью малых РНК, однако у *L. monocytogenes* его роль ограничена. Действительно, статистически значимые изменения структуры РНК были обнаружены только в Hfq-связывающей малой РНК LhgA и в мРНК гена *lmo0850*, с которой эта малая РНК взаимодействует. 3) Изучение структуры РНК при активации программы вирулентности у *L. monocytogenes* выявило изменения в 5'-НТО нескольких мРНК. Дальнейший анализ показал, что у мРНК гена *prsA2* эти изменения вызваны взаимодействием с мРНК гена *hly*, кодирующей ключевой фактор вирулентности листериолизин О. PrsA2 служит шапероном при секреции листериолизина О, и выявленное мРНК-мРНК взаимодействие увеличивает

экспрессию PrsA2, позволяя секретировать большие количества листерииолизина О во время инфекции.

СКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОМОВ ХЛОРОПЛАСТОВ И МИТОХОНДРИЙ КАК МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ ФИЛОГЕНИИ ЯЧМЕНЯ

А.Е. Макаревич, В.С. Панкратов, М.Г. Синявская, Н.В. Луханина, А.М. Шимкевич, И.М. Голоенко, Н.Г. Даниленко, О.Г. Давыденко

Лаборатория нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, 220072, Республика Беларусь; e-mail: bio.makarevich@gmail.com

Цель данной работы — изучение филогении ячменя (*Hordeum* sp.) путем анализа последовательностей хлоропластных (хп) и митохондриальных (мт) геномов его диких и культурных форм. В рамках исследования было проведено NGS хп и мт геномов диких (W3, W4, W8) и одомашненных (Вежа, Роланд и Визит) форм ячменя. Фракция, полученная методом дифференциального центрифугирования, содержала смесь хп и мт ДНК, что позволило изучать оба генома. Обработка сырых FASTQ-файлов проводилась с учетом наличия областей гомологии внутри и между геномами. Она содержала этапы очистки прочтений (Trimmomatic-0.36), их выравнивания на гибридный хп-мт референс (Bowtie2-2.3.3), получения и фильтрации VCF-файлов (Samtools-1.5, VCFlib). Отработка алгоритма проводилась на искусственных FASTQ (ART). В филогенетическом анализе участвовали последовательности хп и мт геномов изучаемых форм, а также последовательности органелльных геномов представителей рода *Hordeum*, доступные в базе NCBI. Построение филогенетических деревьев производилось с помощью методов максимальной парсимонии и байесовского вывода (MrBayes). Анализ топологии филогенетических деревьев для хп и мт геномов не выявил явных различий, опровергающих коэволюцию данных органелл. Как в хп, так и в мт деревьях наблюдалось разделение на две крупные клады, обе из которых содержали как дикие, так и одомашненные формы ячменя, что позволило сделать предположение о наличии нескольких центров его доместикации.

БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ CRISPR/CAS-СИСТЕМЫ ВИДА *Y. SIMILIS* ШТАММ 228

Я.А. Портная¹, В.И. Злобин², Ю.П. Джиоев²

¹Иркутский государственный медицинский университет, кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, Иркутск, 664003, Россия;

²НИИ Биомедицинских технологий, Иркутск, 664003, Россия; email: portnaya.yana.1997@yandex.ru

CRISPR/Cas-система — инновационная технология среди современных исследований, которая рассматривается как подход к моделированию методов геномного редактирования клеточных культур и моделей организмов. Представленный скрининг посредством различных компьютерных программ может быть использован для описа-

ния процессов приобретения и функционирования CRISPR/Cas-системы, для отбора специфических методов генотипирования вида иерсиний, а также для «персонализации» штаммов в специфической терапии. Цель работы — проанализировать особенности CRISPR/Cas-системы штамма *Yersinia similis* 228 и оценить биоинформационный скрининг фагов и плазмид через декодированные спейсеры. Анализ особенностей CRISPR/Cas-системы вида *Y. similis* штамма 228 помог оценить возможность изменения последовательности нуклеиновых кислот (CRISPRone, CRISPRfinder and CRISPRdetect), с целью внедрения необходимой для нас цепочки. Использование компьютерных программ показало эволюцию различных видов. Биоинформационный скрининг фагов и плазмид (PHASTER) через декодированные спейсеры позволил оценить схожесть как внутри-, так и межвидовую. Такие методики помогают сравнивать, как образом штаммы изменялись со временем, и согласно этим изменениям позволяют внедрять уже модифицированный штамм в практическую медицину, например, использовать при молекулярных заболеваниях, таких как фенилкетонурия, гемофилия. Использование онлайн-программ CRISPRone, CRISPRfinder позволило найти 2-касеты у *Y. similis* 228. BLASTn-программа визуализировала идентичность нашего штамма по отношению к другим штаммам из рода *Enterobacteria*. Результат помог предположить отсутствие патологических особенностей исследуемой бактерии, а также их высокую активность у *Y. pseudotuberculosis* R626R с идентичной нуклеотидной последовательностью. В статье представлен эволюционный аспект с целью наблюдения территориальной распространенности рода. Представленный анализ, направленный на скрининг с помощью различных компьютерных программ, может быть использован для описания процесса приобретения и функционирования CRISPR/Cas-системы различных штаммов бактерий, что в дальнейшем может облегчить выбор специфичных методов генотипирования рода иерсиний, необходимых для специфичной штаммовой терапии.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АННОТАЦИЯ ПОВТОРЯЮЩЕЙСЯ ДНК В ГЕНОМЕ СТЕРЛЯДИ (*ACIPENSER RUTHENUS*)

Д.Ю. Прокопов, А.С. Билтуева, В.А. Трифонов

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, 630090, Россия; email: dprokopov@mcb.nsc.ru

Осетровые представляют интересную группу из-за их палеополитиплоидного статуса, базального положения среди Actinopterygii и медленной скорости геномной эволюции. Геном стерляди можно использовать в качестве референсного генома осетровых из-за самого низкого уровня плоидности в этой группе. В данном проекте мы сквенировали ДНК самца и самки стерляди на платформах Illumina и PacBio, после чего произвели сборку генома. Кроме того, мы произвели секвенирование и сборку транскриптома икринок и семенников. Поиск повторяющихся элементов *de novo* проводили на прочтениях Illumina и PacBio, а также на геномной сборке с использованием различных инструментов. В результате мы получили полную библиотеку повторяющихся элементов. Мы идентифици-

ровали тандемные повторы, в том числе те, которые отличались по содержанию между самцом и самкой, однако FISH-анализ показал, что эти различия обусловлены внутривидовым полиморфизмом. Тем не менее, мы смогли идентифицировать хромосомоспецифичные сателлитные последовательности, в том числе такие, которые позволяют различать паралоги. Анализ мобильной ДНК продемонстрировал преобладание ретроэлементов над ДНК-транспозонами. Найдены новые потенциальные случаи горизонтального переноса. Анализ транскриптов показал активность исследуемых ДНК-транспозонов. Наши результаты подчеркивают важность изучения повторяющихся элементов немодельных организмов и могут помочь выявить новые пути эволюции геномов.

Работа была поддержана грантом Российского научного фонда (РНФ) 18-44-04007.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *OMP1 CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

Ю.В. Салтыков, С.С. Зайцев, И.А. Субботина, В.А. Федорова

Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии — филиал в Саратове, Россия; e-mail: subbotina.irinaa@mail.ru

Возбудителем хламидийной инфекции у людей является представитель семейства *Chlamydiaceae* — *Chlamydia trachomatis*. Это внутриклеточный облигатный паразит, вызывающий одно из распространенных заболеваний, передающихся половым путем, — урогенитальный хламидиоз (УГХ). В данной работе, для изучения разнообразия геновариантов *C. Trachomatis* мы исследовали ДНК из клинического материала от людей, направленных для уточнения лабораторного диагноза (УГХ) в диагностические лаборатории Саратовской области. В качестве клинического материала использовали соскобы с генитальных сайтов мужчин и женщин, преимущественно молодого возраста. Обнаружение ДНК возбудителя хламидийной инфекции проводили с помощью молекулярно-генетических методов. Использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующей постановкой горизонтального электрофореза в агарозном геле. После секвенирования ампликонов проводили типирование соответствующего участка генома хромосомы возбудителя хламидиоза по варибельному региону VD2 гена *omp1*, кодирующего MOMP (главный белок наружной мембраны *C. trachomatis*). В результате проведенного исследования было обнаружено, что самый распространенный геновар в Саратовской области — G (52,6%), второй по распространенности — E (31,6%), далее идут геновары F (5,3%), D (5,3%), K (5,3%). Таким образом, полученные данные указывают на выраженный полиморфизм гена *omp1* у штаммов *C. trachomatis*, детектируемых на территории Саратовской области.

Исследование выполнено при поддержке РНФ (проект №17-16-01099).

ПОЛИАДЕНИЛИРОВАНИЕ ТРАНСКРИПТОВ SINE, СИНТЕЗИРУЕМЫХ РНК-ПОЛИМЕРАЗой III, ЗНАЧИТЕЛЬНО УВЕЛИЧИВАЕТ ИХ ВРЕМЯ ЖИЗНИ В КЛЕТКЕ

И.Г. Устьянцев, К.А. Татосян, Д.В. Стасенко

ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда Российской академии наук, Москва, 119991, Россия; e-mail: ustian@mail.ru

До последнего времени считалось, что AAUAAA-зависимому полиаденилированию (нематричный синтез поли(А) на 3'-конце РНК) могут подвергаться только транскрипты, синтезируемые РНК-полимеразой II (например, мРНК). Однако в нашей лаборатории было показано, что РНК, транскрибируемые РНК-полимеразой III (pol III) со многих коротких ретропозонов геномов млекопитающих, подвергаются AAUAAA-зависимому полиаденилированию. Короткие ретропозоны, или SINE (Short Interspersed Elements), представляют собой один из классов мобильных генетических элементов. Сотни тысяч копий SINE рассеяны по геномам всех млекопитающих, а их длина лежит в диапазоне от 100 до 500 п.н. SINE способны транскрибироваться pol III, благодаря наличию в их 5'-концевой половине промотора, состоящего из двух боксов — А и В. Многие виды SINE заканчиваются терминатором транскрипции pol III (TTTT) и содержат гексамеры AATAAA в 3'-концевой части. Оказалось, что pol III-транскрипты таких SINE способны к полиаденилированию. Известно, что поли(А)-хвост мРНК увеличивает время ее жизни в клетке, защищая от действия экзонуклеаз. Мы предположили, что поли(А)-хвост pol III-транскриптов SINE также может препятствовать быстрому распаду этих РНК. В клетки HeLa вводили плазмиды, содержащие SINE из геномов мыши, тушканчика, крота, собаки, лошади, летучих мышей. В качестве контроля использовали те же SINE, но с заменой Т на С в гексамере AATAAA. Транскрипты SINE с такой заменой не полиаденилировались, и время их полужизни оказалось равным 20—30 мин. Время полужизни полиаденилированных транскриптов SINE многократно увеличилось и измерялось часами.

Работа финансирована грантом РФФИ №18-34-00247 мол_a.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ АНР, ARNT И ИХ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ ОПУХОЛЕВОГО И НЕОПУХОЛЕВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Р.О. Черезов, Ю.Е. Воронцова, О.Б. Симонова

ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, 119334, Москва, Россия; e-mail: vjul83@mail.ru

Арил-гидрокарбонный рецептор (АНР) — лиганд-зависимый транскрипционный фактор, функции которого связаны с детоксикацией и поддержанием гомеостаза. АНР играет важную роль в процессах канцерогенеза, поэтому его рассматривают как потенциальную мишень в противораковой терапии. Нашей задачей было сравнить уровень экспрессии АНР, его партнера ARNT (АНР Nuclear Translocator) и генов-мишеней АНР из семейства цитохрома P450 (*CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B*) до и после акти-

вазии АНР его лигандами в клеточных культурах неопухолевого (клетки эмбриональных почек человека НЕК293; мезенхимальные стволовые клетки MSC) и опухолевого (карцинома простаты PC3; глиобластома Sus/fP2, рак молочной железы Mcf7, остеосаркома O.src25/16) происхождения. Для активации АНР были использованы лиганды: индол-3-карбинол и индирубин. Уровень экспрессии оценивали с помощью ПЦР-РВ и вестерн-блоттинга. В отсутствие лиганда уровень экспрессии АНР в культурах был различный: высокий (O.src25/16, PC3), средний (НЕК293, MSC, Sus/fP2) и низкий (Mcf7). Уровень экспрессии ARNT во всех линиях, кроме НЕК293, был очень низкий. Гены *CYP1A1* и *CYP1A2* в опухолевых культурах практически не детектировались, а уровень экспрессии *CYP1B1* был повышен во всех клеточных линиях. После

воздействия лигандами экспрессия генов-мишеней повышалась во всех линиях, кроме НЕК293. Уровень экспрессии белка АНР не коррелировал с повышенной экспрессией генов *CYP*. Особняком оказались результаты по линии НЕК293. В ней был самый высокий уровень экспрессии ARNT, но экспрессия целевых генов после добавления лигандов снижалась в 2 и более раза. Мы предполагаем, что регуляция экспрессии генов цитохрома P450 при ответе клеток на действие ксенобиотиков происходит не только по АНР-зависимому сигнальному пути, но существует и другой механизм, что требует дальнейшего исследования.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ №18-34-00162 мол-а и раздела Гос. задания ИБР РАН №0108-2018-0001.

* * *

Авторский указатель тезисов устных докладов

- Абдукаримов Ш.С. 17
Абдуллин З.С. 22
Абрамов Ю.А. 11, 39
Агапов А.А. 11, 40
Агумава А.А. 48
Адашев В.Е. 11, 15
Акимов В.Э. 11
Алексеева Л.М. 12, 49
Аликина О.В. 12
Аммур Ю.И. 14
Андреева А.А. 12
Андреева Л.Е. 48
Андреюшкова Д.А. 13
Антонов С.А. 38
Антонова Е.П. 19
Анучина А.А. 13
Аравин А.А. 15, 33
Арсеньева Е.Л. 38
Артамонова Т.О. 50
Артыков А.А. 14
Астапенко А.В. 14
Астрейко М.О. 26
Ахмедзянова М. 14
Базылев С.С. 15
Байдакова Г.В. 32
Байтин Д.М. 50
Барадиева Э.Ц. 12
Барлев Н.А. 20, 36
Бахланова И.В. 50
Бахчеван Е.Л. 15, 18
Бахшиев А.Г. 15
Башинская В.В. 16
Бебякова Н.А. 26
Бейлин А.К. 16
Беклемишева В.Р. 37
Белых Д.В. 45
Белых Е.С. 20, 45
Бермишева М.А. 30
Бибииков Н.М. 17
Бибов М.Ю. 30
Блага П. 42
Благодатских К.А. 45
Бобохужаев Ш.У. 17
Богданова М.В. 17, 35
Богданова Ю.В. 42
Болдинова Е.О. 18, 21
Бондаренко К.А. 18
Борисова О.В. 15, 18
Борисович Ю.Г. 16
Бочарова Е.С. 19
Брулер Е.С. 19
Будовская Л.А. 37
Буракова А.А. 17, 35, 39
Бутенко И.О. 32
Вайсерман А.М. 16, 37
Валуйских О.Е. 19
Ванюшина Ю.Н. 38
Вареников Г.Г. 31
Варфоломеева Е.Ю. 33
Василева Е.А. 20
Ведяйкин А.Д. 44
Велегжанинов И.О. 20, 21, 45
Величко А.К. 36
Вергун А.А. 23
Верлов Н.А. 33
Виноградов А.А. 35
Вишняков И.Е. 44
Вовк А.Д. 48
Волков А.А. 20
Волков П.В. 21, 23
Волницкий А.В. 33
Воротеляк Е.А. 17
Габидуллина Л.Р. 26
Гавалко Ю.В. 37
Гаврилов Г.В. 33
Гагаринская Д.И. 21
Гагинская Е.Р. 34
Галинская Т.В. 44
Галкина С.А. 34
Гараева Л.А. 33
Гаранина И.А. 40
Гармаш Е.В. 21
Гаспарян М.Э. 14
Гейдаров Р.Н. 22
Георгиева С.Г. 51
Герасимова Е.М. 22
Гилязова И.Р. 30
Гималова Г.Ф. 22
Гирнык А.Е. 23
Глазунова О.А. 12
Глухов С.И. 45
Говорун Р.Д. 42
Годнеева Б.К. 11, 15
Головко Т.К. 21, 52
Графодатский А.С. 43
Гривенников И.А. 38
Гриценко И.В. 44
Громов К.Б. 23
Груздев Д.С. 12, 49
Губский Л.В. 24
Дакс А.А. 20, 36
Дарвишов Н.Р. 16
Демин А.Г. 34
Денисенко Ю.А. 21, 23
Денисова А.Е. 24, 47, 49
Дергунов А.Д. 39
Дергунова Л.В. 11, 24, 39, 47, 49
Джаубермезов М.А. 36
Дидыч Д.А. 43
Дмитриева В.Г. 11, 39
Дмитриева Т.М. 24
Добаева Н.М. 30
Добыш О.И. 35, 39
Домблидес А.С. 31
Домблидес Е.А. 31
Доронин С.А. 25
Доценко И.Б. 23
Дульцев Ф.Н. 25, 38
Дюдеева Е.С. 25
Дюжикова Н.А. 50
Евстигнеева С.С. 25
Евстифеев В.В. 27
Екомасова Н.В. 26
Елизарова В.С. 26
Емельянов А.К. 32, 33
Еникеева Р.Ф. 26
Ермолина К.В. 21
Есюнина Д.М. 11, 33, 36, 38, 40
Жарков Д.О. 43
Заварухина А.Н. 27
Завильгельский Г.Б. 42
Загородняя О.А. 16
Заделенов В.А. 43
Зайцев С.С. 27, 57
Захарова Е.Ю. 32
Захожий И.Г. 52
Зачепило Т.Г. 28, 58
Зелинский А. 22
Земская Н.В. 28, 31
Золотаренко А.Д. 27
Иванова А.В. 28
Иванова Е.В. 29
Иванова Ю.С. 29, 41
Измайлов А.А. 30
Интересова Е.А. 43
Ионов Н.С. 49
Казалов М.А. 37
Казанцева А.В. 26
Калмыкова А.И. 32, 35, 53
Камышинский Р.А. 33
Кантидзе О.Л. 36
Каныгина А.В. 30
Карапетьян О.Ш. 30
Качкин Д.В. 22, 34
Кветко Е.П. 53
Кипень В.Н. 29, 35, 47
Кисель Э.В. 37
Кичигин И.Г. 43
Климентова Е.А. 30
Коваль А.П. 45
Коваль Л.А. 28, 31
Козарь Е.В. 31
Козлова А.Н. 37
Козяева В.В. 12, 49
Коляда А.К. 16, 37
Комар А.А. 36, 38
Комаров П.А. 53
Комиссаров А.С. 34
Кондратьева Е.В. 31
Коновалова М.В. 32
Копытова А.Э. 32
Кордюкова М.Ю. 32, 53
Короткова О.Г. 17, 23
Котов А.А. 11, 15
Котова Е.С. 30
Кошлань И.В. 42
Кошлань Н.А. 42
Кропочева Е.В. 33
Круткина М.С. 49
Куба А.А. 16
Кузиванова О.А. 21
Кузмицкая П.В. 24, 33, 53
Кулабухова Д.Г. 33
Кулак М.М. 34
Кульбачинский А.В. 11, 33, 38, 40
Курусъ Н.Н. 25, 38
Лавров А.В. 13, 31
Лага В.Ю. 34
Ланда С.Б. 33

- Ларионова О.С. 27
 Лашкул В.В. 34
 Лемеш В.А. 17, 35
 Леонова Т.С. 20
 Лисачев А.П. 13
 Лисицкая Л.А. 36
 Литвинов Д.Ю. 39
 Литвинов С.С. 26
 Ломзов А.А. 25, 38
 Лопатина Н.Г. 28
 Лужин А.В. 36
 Макамов А.Х. 17
 Макарова А.В. 18, 21, 43, 52
 Макарова И.В. 48
 Макунин А.И. 43
 Малашичев Е.Б. 37
 Малова Т.В. 38
 Мамонтова В.А. 20, 36
 Марков Д.Д. 48
 Мельнов С.Б. 47
 Мензоров А.Г. 37
 Мелькина О.Е. 42
 Мешалкина Д.А. 37
 Мизgireв И.В. 37
 Милиюхина И.В. 33
 Михайлович В.М. 22
 Морозов А.В. 19
 Мосейко В.В. 16, 37
 Москалев А.А. 28, 31
 Мурланова Е.В. 16
 Муштафина О.Е. 48
 Насибуллин Т.Р. 48
 Некрасов Д.В. 38
 Ненашева В.В. 48
 Никитин М.В. 38
 Николаев М.А. 32
 Новосадова Е.В. 38
 Носова А.Ю. 39, 50
 Носова Е.В. 39
 Озолин О.Н. 12
 Оленина Л.В. 11, 15
 Оленкина О.М. 11, 32, 53
 Олина А.В. 40
 Орехова М.М. 40
 Орлов А.М. 41
 Орлов М.А. 40
 Орлова С.Ю. 41
 Осипов Д.О. 23
 Осичанская Д.П. 16
 Павлов В.Н. 30
 Павлова Л.Е. 41, 48
 Павлова О.А. 34
 Пай О.А. 29, 41
 Патутина Е.О. 12
 Петрова Д.В. 42
 Петрова Н.В. 36
 Петухов А.В. 20, 36
 Плюта В.А. 42
 Побегуц О.В. 32
 Побединцева М.А. 43
 Побережный Д.Ю. 48
 Полтораченко В.А. 43
 Полуконова А.В. 43
 Пономарева Е.В. 44
 Попов А.Ю. 22
 Прописцова Е.А. 44
 Простова М.А. 38
 Пурвиньш Я.В. 44
 Пучков К.С. 37
 Пчелина С.Н. 32, 33
 Пылина Я.И. 19, 20, 45, 52
 Пышный Д.В. 25, 38
 Радион Е.И. 45, 53
 Разин С.В. 25
 Рекунова М.В. 48
 Родионова Д.А. 45
 Рожкова А.В. 39
 Рожкова А.М. 21, 23
 Романенко М.С. 37
 Романишко Е.Л. 46
 Рощина М.П. 46
 Рубель А.А. 22, 34
 Рубцова Е.А. 17
 Румянцев А.М. 46, 51
 Рыбак А.В. 20
 Рычков Г.Н. 32
 Рязанский С.С. 45
 Сайфитдинова А.Ф. 34
 Сакаева Д.Д. 22
 Сакович В.И. 17
 Салтыков Ю.В. 27, 57
 Санамьян М.Ф. 17
 Сафина Д.Р. 46
 Свердлов Е.Д. 43
 Свищевская Е.В. 32
 Селина П.И. 46
 Семенова М.В. 17, 23
 Сенкевич К.А. 32, 33
 Сергина С.Н. 19
 Сердюкова Н.А. 43
 Сидорин А.В. 46
 Сидорова Д.Е. 42
 Сизенко А.К. 37
 Силина Е.В. 21, 52
 Симицын А.П. 21, 23
 Скоблов М.Ю. 31
 Слободова Н.В. 12
 Смирнихина С.А. 13
 Смирнова Е.Г. 47
 Снытков Е.В. 47
 Солдатенко А.В. 31
 Соловьев И.А. 28
 Сорокин А.А. 40
 Сошникова Н.В. 51
 Ставчанский В.В. 47, 49
 Старцева О.М. 45
 Старшова П.А. 20
 Степаненко Е.А. 48
 Субботина И.А. 27, 57
 Сухачева М.В. 12
 Сушенцов О.Е. 19
 Сырочева А.О. 12
 Тарантул В.З. 38, 48
 Татарский Е.В. 51
 Тетерина Е.В. 51
 Тетерюк Л.В. 19
 Тимашева Я.Р. 48
 Тимина М.Ф. 41, 48
 Титов С.В. 22
 Трифонов В.А. 13, 43, 56
 Туктарова И.А. 48
 Узун М.М. 12, 49
 Ульянов С.В. 25
 Урбанович О.Ю. 24, 33, 53
 Файзулов Е.Б. 14
 Федоненко Ю.П. 25
 Федорова В.А. 27, 57
 Федорова О.А. 20, 36
 Федорова Я.В. 37
 Фийон В. 34
 Филиппенков И.Б. 24, 47, 49
 Филонова Н.Н. 27
 Фисунов Г.Ю. 40
 Фомина Е.А. 49
 Фомина М.Н. 29, 41
 Хайтина С.Ю. 50
 Хлебаева Д.А.-А. 50
 Хмель И.А. 42
 Ходорковский М.А. 44, 55
 Хоружий Н.Е. 17
 Храмева Е.Е. 25
 Хромова А.В. 16
 Хрунин А.В. 11
 Хусаинова Р.И. 26, 53
 Хуснутдинова Э.К. 22, 26, 30
 Цапина О.А. 50
 Царегородцева Д.С. 32
 Царь А.И. 17, 39, 50
 Чадин И.Ф. 52
 Чанышев М.Д. 45
 Чапров К.Д. 51
 Черных Э.С. 16
 Чернов Ю.О. 22, 34
 Шавкунов К.С. 12
 Шадрин Д.М. 19, 20, 45, 52
 Шапошников М.В. 31
 Шарав Н.И. 51
 Шевелев Г.Ю. 8, 25, 38
 Шевелев Ю.Я. 25
 Шейнов А.А. 51
 Шелякин М.А. 52
 Шилкин Е.С. 52
 Шишлова-Соколовская А.М. 53
 Шмалый А.В. 41, 48
 Шмитко А.О. 53
 Шрам С.И. 12
 Штам Т.А. 33
 Шувалов О.Ю. 20, 36
 Щеголева Е.В. 28
 Щепетов Д.М. 16
 Щербаков Д.Ю. 43
 Щербатова Н.А. 48
 Щербо Д.С. 45
 Эрдман В.В. 48
 Юдкина А.В. 43
 Юрченко А.А. 43
 Яголович А.В. 14
 Яковлев С.И. 27
 Якунина М.В. 40
 Ялаев Б.И. 53
 Янус Г.А. 41

Авторский указатель стендовых сообщений

Ажикина Т.Л. 55
Андрющенко С.В. 54
Артамонова Т.О. 55
Бекпергенова А.В. 54
Билтуева Л.С. 56
Быченко О.С. 55
Васильев С.А. 54
Васильева О.Ю. 54
Воронцова Ю.Е. 57
Голоенко И.М. 56
Григорьев А.С. 55
Давыденко О.Г. 56
Даниленко Н.Г. 56
Джигоев Ю.П. 56
Дьяконов Е.Е. 55
Зайцев С.С. 57

Зарубин А.А. 54
Здвижкова И.А. 54
Злобин В.И. 56
Игнатов Д. 55
Йоханссон Й. 55
Каллиполитис Б. 55
Капрельянц А.С. 55
Луханина Н.В. 56
Макаревич А.Е. 56
Панкратов В.С. 56
Портная Я.А. 56
Прокопов Д.Ю. 56
Рахматуллина О.И. 54
Салина Е.Г. 55
Салтыков Ю.В. 57
Семеновых Т.А. 54

Синявская М.Г. 56
Симонова О.Б. 57
Скрябин Н.А. 54
Стасенко Д.В. 57
Субботина И.А. 57
Татосян К.А. 57
Трифонов В.А. 56
Устьянцев И.Г. 57
Федорова В.А. 57
Фрейтаг Н. 55
Ходорковский М.А. 55
Цимоха А.С. 55
Черезов Р.О. 57
Шимкевич А.М. 56