



St. Petersburg  
University



VII Congress of Vavilov Society  
of Geneticists and Breeders (VSG&B)  
and Associate Symposiums

VII Съезд Вавиловского общества  
генетиков и селекционеров (ВОГиС)

**СБОРНИК ТЕЗИСОВ**  
**BOOK OF ABSTRACTS**

18-22 June 2019  
Saint-Petersburg

Vavilov Society of Geneticists and Breeders  
Saint Petersburg State University



Глубокоуважаемые коллеги!

Мы рады приветствовать Вас на VII Съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГИС) в Санкт-Петербурге, который посвящен 100-летию первой университетской кафедры генетики в России – кафедры генетики СПбГУ. История кафедры отражает сложную и насыщенную событиями историю отечественной генетической науки. Масштаб научной школы Кафедры подкреплен не только множеством исследований, опубликованных ее коллективом в наиболее рейтинговых международных изданиях, но и большим количеством выпускников, работающих в генетических учреждениях по всему миру. Нынешний Съезд соберет более 1000 участников, представляющих научные коллективы из десятков стран, от Австралии до Канады. Научная программа VII Съезда ВОГИС призвана осветить наиболее актуальные современные направления в генетике и селекции, и включает 20 симпозиумов, три круглых стола и три ассоциированные конференции. Особое внимание будет уделено вопросам редактирования генома, генетики стволовых клеток, медицинской и сельскохозяйственной генетики, генетики старения и нейрогенетики, симбиогенетики, геномики, транскриптомики, протеомики, биоинформатики и системной биологии, правовому регулированию генетических технологий, а также генетическому образованию и истории генетики. В программе Съезда более 20 пленарных, около 400 устных и более 600 постерных докладов. Мероприятие пройдет в одном из наиболее известных и красивых исторических пригородов Санкт-Петербурга – Петергофе. Мы ожидаем, что VII Съезд ВОГИС внесет значительный вклад в определение путей развития генетической и селекционной науки на ближайшие пять лет и создаст основы для такого развития на более отдаленную перспективу.

От лица Организационного комитета VII Съезда ВОГИС желаем Вам успешного выступления на Съезде, получения новых знаний, профессиональных контактов и общения с коллегами, а также знакомства с Санкт-Петербургом и первым в России Санкт-Петербургским государственным университетом!

Председатель  
VII Съезда ВОГИС,  
Президент ВОГИС,  
Декан  
биологического  
факультета  
СПбГУ,  
Академик РАН

**И.А. Тихонович**

Председатель  
Программного комитета  
VII Съезда ВОГИС,  
Почетный президент ВОГИС,  
Председатель научного Совета  
по генетике и селекции РАН,  
Академик РАН

**С.Г. Инге-Вечтомов**



Dear colleagues!

We are happy to welcome you at the VII Congress and Associate Symposiums of Vavilov Society of Geneticists and Breeders (VSGB) on the 100th Anniversary of the Department of Genetics of Saint Petersburg State University. The history of the department finds an echo in the history of the Russian genetics in general. The number of studies published in high impact journals and the number of alumni working in many genetic laboratories all over the world testify to the scope and range of the departmental research. More than 1000 scientists from dozens of countries from Australia to Canada has gathered at this Congress. The scientific programme of the VII VSGB Congress is designed to highlight the most relevant modern trends in genetics and selection. It consists of 20 symposia, three round tables and three associated conferences. Special attention will be paid to the issues of genome editing, stem cell genetics, medical and agricultural genetics, neurogenetics and genetics of ageing, symbiogenetics, genomics, transcriptomics, proteomics, bioinformatics and systems biology, the legal regulation of genetic technologies, as well as the genetic education and the history of genetics. There are about 20 plenary lectures, 400 oral talks and 600 poster presentations in the Congress programme. The venue is Peterhof, one of the most famous and picturesque suburbs of Saint-Petersburg. We expect that the VII Congress will contribute to creation of the road map to the genetics and breeding for the next five years and lay the foundations for the future.

On behalf of the Organizing Committee of the VII Congress and Associate Symposiums of Vavilov Society of Geneticists and Breeders we wish you a successful presentation, gaining new knowledge, building a network and fruitful communication with the colleagues, as well as a pleasant visit to Saint-Petersburg and the first Russian Saint-Petersburg University!

Congress  
Chairperson,  
President of VSGB,  
Dean of SPbSU  
Faculty of Biology,  
Professor

**Igor Tikhonovich**

Head of the Programme  
Committee,  
Chair of the RAS  
Scientific Council  
on Genetics and Breeding,  
Professor

**Sergey Inge-Vechtomov**



**МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС**  
«VII СЪЕЗД ВАВИЛОВСКОГО ОБЩЕСТВА  
ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ,  
ПОСВЯЩЕННЫЙ 100-ЛЕТИЮ  
КАФЕДРЫ ГЕНЕТИКИ СПБГУ,  
И АССОЦИИРОВАННЫЕ СИМПОЗИУМЫ»  
18-22 июня 2019 г., Санкт-Петербург, Россия

**VII INTERNATIONAL CONGRESS  
AND ASSOCIATE SYMPOSIUMS  
OF VAVILOV SOCIETY OF GENETICISTS AND  
BREEDERS ON THE 100TH ANNIVERSARY  
OF THE DEPARTMENT OF GENETICS  
OF SAINT PETERSBURG STATE UNIVERSITY**  
June 18-22, 2019, Saint Petersburg, Russia

## СБОРНИК ТЕЗИСОВ

В сборнике тезисов Международного Конгресса «VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы» (18-22 июня 2019 г., Санкт-Петербург, Россия) представлены материалы докладов участников Конгресса, одобренных программным комитетом, публикуемые в авторской редакции.

*Научное электронное издание*

УДК 575.1/2

ББК 28.04

ISBN 978-5-9651-1237-1

ООО Издательство ВВМ (WM Publishing Ltd.)  
190000, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Декабристов, д. 6,  
литер А, пом. 10-н, e-mail: vvmplib@yandex.ru,  
телефон +7(901)306-62-54.

Электрон. текстовые дан. (1143 с., 34,3 МБ).  
Тираж на съемных машиночитаемых  
носителях 1200 экземпляров. Подписано к  
изданию 30.05.2019 г. Систем. требования:  
IBM PC; Acrobat Reader 3.0 и выше.

© Межрегиональная общественная  
организация Вавиловское общество генетиков  
и селекционеров (ВОГиС)  
196608, Санкт-Петербург, Пушкин, Подбельского ш., д. 3,  
e-mail: secretariat@vogis.org, телефон: +7(812)470-51-00.

© Коллектив авторов

## BOOK OF ABSTRACTS

Book of abstracts of the VII International Congress and Associate Symposiums of Vavilov Society of Geneticists and Breeders on the 100th Anniversary of The Department of Genetics of Saint Petersburg State University (June 18-22, 2019, Saint Petersburg, Russia) comprises the abstracts of the Congress participants approved by the Program Committee and published in the author's edition.

*Electronic scientific edition*

ISBN 978-5-9651-1237-1

WM Publishing Ltd.  
190000, Russia, St. Petersburg, Dekabristov st., 6, A, 10-n,  
e-mail: vvmplib@yandex.ru,  
phone +7 (901) 306-62-54.

Electronic data (1143 p., 34,3 MB).  
Prepared in 1200 electronic copies.  
Signed for publication on May 30, 2019.  
Minimal system requirements: IBM PC; Acrobat  
Reader 3.0 and later.

© Interregional Public Organization  
Vavilov Society of Geneticists and Breeders  
(VSGB)  
196608, St. Petersburg, Pushkin, Podbelskogo sh., 3,  
e-mail: secretariat@vogis.org, phone: +7 (812) 470-51-00.

© Author collective



St. Petersburg  
University



VSGGB  
Vavilov Society  
of Geneticists  
and Breeders

## ОРГАНИЗАТОРЫ VII СЪЕЗДА ВОГИС / ORGANIZERS OF THE VII VSGB CONGRESS



Санкт-Петербургский государственный  
университет  
(СПбГУ)

St. Petersburg State University  
(SPbSU)



Вавиловское общество генетиков и  
селекционеров  
(ВОГИС)

Vavilov Society of Geneticists and Breeders  
(VSGGB)



Всероссийский научно-  
исследовательский институт  
сельскохозяйственной микробиологии  
(ФГБНУ ВНИИСХМ)

All-Russia Research Institute for  
Agricultural Microbiology (ARRIAM)

## ГЕНЕРАЛЬНЫЕ ПАРТНЕРЫ / GENERAL PARTNERS



Федеральный исследовательский центр  
Всероссийский институт генетических  
ресурсов растений им. Н.И.Вавилова (ВИР)

Vavilov Federal Research Centre  
of Plant Genetic Resources  
(VIR)



Институт общей генетики им. Н.И.  
Вавилова РАН  
(ИОГен РАН)

Vavilov Institute  
of General Genetics of the  
Russian Academy of Sciences



Федеральный исследовательский центр  
Институт цитологии и генетики СО РАН  
(ИЦИГ СО РАН)

Federal Research Centre  
Institute of Cytology and Genetics of  
Syberian Branch of the Russian Academy of  
Sciences

## ГЕНЕРАЛЬНЫЕ ИНФОРМАЦИОННЫЕ ПАРТНЕРЫ / GENERAL INFORMATION PARTNERS



ООО Центр Межрегионального  
Инновационного Развития  
«ИННО-МИР»

Interregional Innovative Development  
Center "INNO-MIR"



Мультимедийный портал  
«ПОИСК»

Multimedia Portal  
"POISK"



Издательство  
«Эко-Вектор»

"Eco Vector"  
Publishing House



### ГЕНЕРАЛЬНЫЕ СПОНСОРЫ / GENERAL SPONSORS



**ЩЕЛКОВО  
АГРОХИМ**

АО «Щёлково Агрохим»  
Schelkovo Agrohim



ООО «Диаэм»  
Dia-M



ООО «ТД "Химмед"»  
Chimmed



Группа компаний «Бисолби»  
Bisolbi



ООО «Экос»  
Ecos

### СПОНСОРЫ / SPONSORS



ООО «Компания Хеликон»  
Helicon



**ПРОДИМЕКС**

ООО «Продимекс»  
Prodimeks



Biotechnology Company

BIOCAD



Macrogen Europe B.V.



Компания SkyGen  
SkyGen



Компания Quadros-Bio  
Quadros-Bio



Ассоциированная международная конференция «Хлеба будущего» проводится при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант No 19-016-20007



ИнтерЛабСервис  
InterLabService



## КОМИТЕТЫ VII СЪЕЗДА ВОГИС

### **Председатель Конгресса**

Акад. РАН И.А. Тихонович

### **Заместители председателя Конгресса**

Акад. РАН С.Г. Инге-Вечтомов

Акад. РАН В.К. Шумный

Акад. РАН Н.А. Колчанов

Акад. РАН Л.А. Беспалова

Акад. РАН Н.К. Янковский

Акад. РАН С.В. Шестаков

### **Заместитель председателя – ученый секретарь Конгресса**

К.б.н. А.А. Нижников

### **Программный комитет**

(является частью Организационного комитета)

#### **Председатель программного комитета**

Акад. РАН С.Г. Инге-Вечтомов

#### **Члены комитета**

Акад. РАН В.П. Пузырев

Акад. РАН К.Г. Скрыбин

Акад. РАН П.Н. Харченко

Акад. РАН В.М. Говорун

Чл.-корр. РАН В.С. Баранов

Чл.-корр. РАН И.А. Захаров-Гезехус

Чл.-корр. РАН М.А. Лагарькова

Чл.-корр. РАН В.А. Степанов

Чл.-корр. РАН В.Ю. Макеев

Чл.-корр. РАН А.А. Москалев

Чл.-корр. РАН А.В. Кочетов

Чл.-корр. РАО Э.К. Хуснутдинова

Проф. Е.К. Хлесткина

Проф. Л.А. Лутова

Проф. Н.В. Равин

Проф. Н.И. Дзюбенко

Проф. П.М. Бородин

Проф. Р.Р. Гайнетдинов

Проф. С.К. Абилев

Проф. В.Н. Попов

Проф. Э.И. Колчинский

Проф. Ю.И. Павлов

Проф. Ю.О. Чернов

Проф. О.Л. Серов

Проф. Т.П. Шкурат

Д.б.н. А.Ю. Драгович

Д.б.н. А.С. Глотов

Д.б.н. А.В. Кульбачинский

Д.б.н. А.М. Кудрявцев

Д.б.н. Е.В. Савватеева-Попова

Д.б.н. Л.А. Эльконин

Д.м.н. В.Л. Ижевская

### **Локальный комитет**

(является частью Организационного комитета)

#### **Председатель локального комитета**

Проректор по научной работе СПбГУ,

К.ф.-м.н. С.В. Микушев

#### **Члены комитета**

К.б.н. К.С. Антонец

К.б.н. М.В. Белоусов

К.б.н. С.А. Бондарев

К.б.н. Е.В. Голубкова

Д.б.н. Г.А. Журавлева

Д.б.н. Ю.Л. Орлов

К.б.н. М.Л. Румянцева

К.б.н. А.А. Заварзин

К.б.н. В.Е. Творогова

К.б.н. Н.В. Цветкова

Ю.В. Маловичко

М.Е. Белоусова

Н.В. Филиппова

Н.С. Тихова

М.Е. Черкасова

А.С. Саксаганская

В.С. Мунтян

К.б.н. С.П. Фарбер

#### **Секретарь локального комитета**

И.А. Колесник

#### **Координатор**

А.М. Дединкин



## COMMITTEES OF THE VII VSGB CONGRESS

### Congress Chair

Prof. Igor A. Tikhonovich

### Deputy Chairs of the Congress

Prof. Sergey G. Inge-Vechtomov

Prof. Vladimir K. Shumnyi

Prof. Nikolay A. Kolchanov

Prof. Lyudmila A. Bespalova

Prof. Nikolay K. Yankovskiy

Prof. Sergey V. Shestakov

### Deputy Chair, Scientific Secretary of the Congress

Dr. Anton A. Nizhnikov

## Programme Committee

### Head of the Programme Committee

Prof. Sergey G. Inge-Vechtomov

### Members of the Programme Committee

Prof. Valery P. Puzyrev

Prof. Konstantin G. Scriabin

Prof. Peter N. Kharchenko

Prof. Vadim M. Govorun

Prof. Vladislav S. Baranov

Prof. Ilya A. Zakharov-Gezehous

Prof. Maria A. Lagarkova

Prof. Vadim A. Stepanov

Prof. Vsevolod Yu. Makeev

Prof. Alexey A. Moskalev

Prof. Alexey V. Kochetov

Prof. Elena K. Khlestkina

Prof. Liudmila A. Lutova

Prof. Nikolay V. Ravin

Prof. Nikolay I. Dzyubenko

Prof. Pavel M. Borodin

Prof. Raul R. Gainetdinov

Prof. Serikbay K. Abilev

Prof. Vasily N. Popov

Prof. Eduard I. Kolchinsky

Prof. Elza K. Khusnutdinova

Prof. Yury I. Pavlov

Prof. Yury O. Chernov

Prof. Oleg L. Serov

Prof. Tatyana P. Shkurat

Dr. Aleksandr M. Kudryavtsev

Dr. Aleksandra Yu. Dragovich

Dr. Andrey S. Glotov

Dr. Andrey V. Kulbachinsky

Dr. Elena V. Savvateeva-Popova

Dr. Lev A. Elkonin

Dr. Vera L. Izhevskaya

## Local Committee

### Head of the Local Committee

Vice-Rector for Scientific Affairs, Dr. S.V.

Mikushev

### Members of the Local Committee

Dr. Kirill S. Antonets

Dr. Mikhail V. Belousov

Dr. Stanislav A. Bondarev

Dr. Elena V. Golubkova

Dr. Galina A. Zhuravleva

Dr. Yury L. Orlov

Dr. Marina L. Rummyantseva

Dr. Aleksey A. Zavarzin

Dr. Varvara E. Tvorogova

Dr. Natalia V. Tsvetkova

Yury V. Malovichko

Maria E. Belousova

Natalia V. Philippova

Natalia S. Tikhova

Maria E. Cherkasova

Alla S. Saksaganskaya

Victoria S. Muntian

Dr. Svetlana P. Farber

### Secretary of the Local Committee

Irina A. Kolesnik

### Congress Coordinator

Aleksandr M. Dedinkin

## ОГЛАВЛЕНИЕ / TABLE OF CONTENTS

<b>ТЕЗИСЫ ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ / ABSTRACTS OF PLENARY LECTURES</b> .....	76
100 ЛЕТ КАФЕДРЕ ГЕНЕТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ С.-ПЕТЕРБУРГСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА..... Инге-Вечтомов С.Г.76	76
ANTIPRION SYSTEMS STUDY REVEALS A NEW VAST ARRAY OF PRION VARIANTS ..... Wickner R.B., Edskes H. K., Bezsonov E. E., Son M., Dewilde M., Wu S.77	77
GENETIC INSTABILITY RESULTING FROM DEFECTIVE DNA REPLICATION IN YEAST ..... Petes T. D.78	78
GENETIC TOOLS OPEN NEW WINDOWS IN RHIZOBIUM RESEARCH..... Lindström K., Aerse A.A., Li H., Mousavi S.A., Yan L., Penttinen P.79	79
REVERSE GENETICS AND ЦИТОКИНЫ ..... Nedospasov S.A.80	80
SITE-DIRECTED GENOME MODIFICATION IN CEREALS USING CAS ENDONUCLEASE TECHNOLOGY .....	81
Kumlehn J.81	
ГЕНЕТИКА, БИОИНФОРМАТИКА, СИСТЕМНАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ БИОЛОГИЯ .....	82
Колчанов Н.А.82	
ENZYMATIC MACHINERY OF PROTEIN-BASED INHERITANCE.....	83
Chernoff Y.O.83	
HEREDITARY CANCER SYNDROMES .....	84
Imyanitov E.N., Iyevleva A.G.84	
GENEBANK COLLECTIONS - THE GENETIC BASIS FOR PLANT BREEDING AND RESEARCH .....	85
Börner A., Nagel M., Agacka-Mořdoch M., Börner M., Lohwasser U., Riewe D., Altmann T., Pshenichnikova T.A., Khlestkina E.85	
GLOBAL VISION FOR BREAD WHEAT RESEARCH .....	86
Langridge P., Wheat Initiative, Berlin-Dahlem,86	
БАКТЕРИИ С РЕДУЦИРОВАННЫМ ГЕНОМОМ: РАСКРЫВАЕМ ТАЙНЫ КОНТРОЛЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ.....	87
Говорун В. М.87	
ВКЛАД ГЕНЕТИКИ В МЕДИЦИНУ .....	88
Гинтер Е.К.88	
THE GENOME RUSSIA PROJECT-2019.....	89
Obrien S. J., Zhernakova D. V., Brukhin V., Malov S., Oleksyk T. K., Koepfli K. P., Zhuk A., Dobrynin P., Kliver S., Cherkasov N., Tamazian G., et al.89	
PARAMECIUM, A UNICELLULAR MODEL FOR GERMLINE-SOMA DIFFERENTIATION AND TRANSGENERATIONAL EPIGENETIC INHERITANCE .....	90
Meyer E.90	
PROTEOME OF A HUMAN: WHAT FOR? .....	91
Ponomarenko E. , Lisitsa A., Archakov A.91	
ГЕНОМИКА И ЭПИГЕНОМИКА ФУНКЦИЙ И ПАТАЛОГИЙ МОЗГА.....	92
Рогаев Е. И.92	
ТРАНСГЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ФАРМАКОЛОГИИ .....	93
Гайнетдинов Р.Р.93	

BEYOND THE TIP OF THE ICEBERG: DISCOVERING MILLIONS MORE “HUMAN” GENES IN OUR MICROBIOMES AND THEIR LINKS TO PHENOTYPE ..... 94  
Knight R.94

РАЗВИТИЕ ГЕНЕТИКИ В БЕЛАРУСИ..... 95  
РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ..... 95  
Кильчевский А.В., Шейко Р.И.95

**ТЕЗИСЫ ВЕЧЕРНИХ ЛЕКЦИЙ / ABSTRACTS OF EVENING LECTURES ... 96**

SYMBIOGENESIS, EVOLUTION AND ENERGY..... 96  
Martin W.F.96

БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ КАК ИСТОКИ И ПРЕДЕЛЫ СУЩЕСТВОВАНИЯ  
ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА ..... 97  
Янковский Н. К.97

**ТЕЗИСЫ СИМПОЗИАЛЬНЫХ ДОКЛАДОВ / ABSTRACTS OF TALKS ..... 98**

**Симпозиум I: Репликация, транскрипция, трансляция / Symposium I: Replication,  
Transcription, Translation ..... 98**

RESILIENCE OF REPLICATION MACHINERY IN EUKARYOTES..... 98  
Павлов Ю.И.98

ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ Υ-СЕМЕЙСТВА В РЕПЛИКАЦИИ ПОВРЕЖДЕННОЙ ДНК..... 99  
Болдинова Е.О., Шилкин Е.С., Миропольская Н.А., Петушков И.В., Макарова А.В.99

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ ЭКСТРЕМОФИЛЬНОЙ  
БАКТЕРИИ *DEINOCOCCUS GOBIENSIS* ..... 100  
Никитин М.В., Простова М.А., Есюнина Д.М., Комар А.А., Кульбачинский А.В.100

PECULIAR INTERACTION OF REPLICATION FORK AND CHROMATIN STRUCTURE  
LEADING TO EXPANSION OF HUMAN TELOMERIC TRACTS ..... 101  
Aksenova A. Y. , Radchenko E. A. , Volkov K. V. , Shishkin A. A. , Pavlov Y.I. , Mirkin S. .101

ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР OCT-1 В КОНТРОЛЕ ГЕНОВ И ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКАХ  
ЧЕЛОВЕКА..... 102  
Георгиева С. Г., Панкратова Е.В., Степченко А. Г., Порцева Т. В.102

ШИРОКОМАСШТАБНЫЙ ПОИСК НУКЛЕОТИДНЫХ МОТИВОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ  
ПРОЦЕСС ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ ..... 103  
Пиндюрин А.В., Болдырева Л.В., Иванкин А.В., Летягина А.Е Омелина Е.С., Яринич Л.А., Лебедев  
М.О., Кожевникова Е.Н.103

ИЗБЫТОЧНЫЕ ПРОМОТОРЫ КАК СУПРЕССОРЫ ГОРИЗОНТАЛЬНО ПРИОБРЕТЁННЫХ  
ГЕНОВ..... 104  
Быков А.А., Шавкунов К.С., Аликина О.В., Сырочева А.О., Озолинь О.Н.104

РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ПРИ  
ТРАНСКРИПЦИИ ПОВРЕЖДЕННОЙ ДНК..... 105  
Агапов А.А., Пупов Д.В., Игнатов А.В., Есюнина Д.М., Кульбачинский А.В.105

FROM THE STRUCTURE AND FUNCTION OF RIBOSOME TO DISEASE-CURING  
ANTIBIOTICS..... 106  
Polikanov Y.106

MITOCHONDRIAL TRANSLATION INITIATION FACTOR 3 IS NON-OBLIGATORY FOR  
PROTEIN BIOSYNTHESIS..... 107  
Kamenski A.107

РЕГУЛЯЦИЯ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ ..... 108  
Виноградова Д.С., Zegarra V., Максимова Е.М., Касацкий П.С., С.В. Кириллов, Е.В. Полесскова, Р.  
Milon, Коневега А.Л.108

ВЗАИМНОЕ ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ТЕРМИНАЦИИ И ИНИЦИАЦИИ ТРАСЛЯЦИИ ЭУКАРИОТ.....	109
Алкалаева Е.З., Егорова Т.В., Иванов А.В., Теренин И.М., Дмитриев С.Е., Шувалова Е.Ю., Шувалов А.В., Соколова Е.Е.109	
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ.....	110
Журавлева Г. А.110	
РНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ.....	111
Сергиев П.В., Лаптев И.Г., Плетнев Ф.И. Швецова Е.Т., Аверина О.А., Пермьяков О.А., Серебрякова М.В., Дейкин А.В., Поликанов Ю.С., Донцова О.А.111	
<b>Симпозиум II: Экологическая генетика и генетическая токсикология / Symposium II: Ecological Genetics and Genetic Toxicology .....</b>	<b>112</b>
КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИОННЫХ СТРАТЕГИЙ СВОБОДНОЖИВУЩИХ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ЭУКАРИОТ.....	112
Скарлато С.О.112	
ПРИРОДНО-ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИЙ АГРОБАКТЕРИАЛЬНЫХ PLAST-ГЕНОВ .....	113
Матвеева Т.В., Хафизова Г.В. , Владимиров И.А., Сокорнова С.В., Исаева И.Г.113	
ENVIRONMENTAL AND PHYSIOLOGICAL REGULATION OF YEAST SELF-PERPETUATING PROTEIN AGGREGATES .....	114
Chernova T.A., Karpova T.S., Wilkinson K.D., Chernoff Y.O.114	
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ....	115
Дурнев А.Д., Жанатаев А.К.115	
МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ТЯЖЕЛОЙ ВОДЫ НА ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ.....	116
Абилев С.К., Смирнова С.В., Игонина Е.В.116	
БАКТЕРИАЛЬНЫЙ МЕТАГЕНОМ КАК ФАКТОР ИНДУКЦИИ И МОДИФИКАЦИИ МУТАГЕНЕЗА В КЛЕТКАХ ОРГАНИЗМА ХОЗЯИНА.....	117
Дружинин В.Г., Баранова Е.Д.117	
ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ НЕСИММЕТРИЧНОГО ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНОГО НИТРОЗОДИМЕТИЛАМИНА В ОРГАНИЗМЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ .....	118
Ловинская А.В., Колумбаева С.Ж., Абилев С.К., Коломиец О.Л.118	
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БУККАЛЬНОГО МИКРОЯДЕРНОГО ЦИТОМНОГО ТЕСТА.....	119
Сычева Л.П.119	
FROM PRIMARY LESIONS TO INHERITED CHANGES OF GENETIC MATERIAL .....	120
Stepchenkova E.I., Zhuk A.S., Pavlov Y.I., Inge-Vechtomov S.G.120	
СТРЕССОВЫЕ ГЕНЫ СЕМЕЙСТВА HSP70 И АДАПТАЦИЯ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ УСЛОВИЯМ: ЗАКОНОМЕРНОСТИ И ИСКЛЮЧЕНИЯ .....	121
Гарбуз Д.Г., Зацепина О.Г. , Давлетшин А.И., Евгеньев М.Б.121	
<b>Симпозиумы III, XVIII: Биоинформатика и системная биология / Symposia III, XVIII: Bioinformatics and Systems Biology .....</b>	<b>122</b>
ЭВОЛЮЦИЯ ПАТТЕРНОВ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ.....	122
Пенин А.А., Касьянов А.С., Клепикова А.В., Герасимов Е.С., Терерина А.А., Логачева М.Д.122	
СКРЫТЫЙ КОДИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ ГЕНОВ ЭУКАРИОТ.....	123
Кочетов А.В.123	
ФОРМИРОВАНИЕ ТРИПЛЕКСОВ ДЛИННЫМИ НЕКОДИРУЮЩИМИ РНК В МАСШТАБЕ ПОЛНОГО ГЕНОМА .....	124
Медведева Ю.А.124	

FUNCTIONAL ANALYSIS OF REGULATORY POLYMORPHISMS IN VERTEBRATE GENOMES.....	125
Kulakovskiy I. V., Vorontsov I. E., Yevshin I. S., Sharipov R. N., Fedorova A. D., Rumynskiy E. I., Medvedeva Y. A., Penzar D., Bajic V.B., Kolpakov F. A., Makeev V.J.125	
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ <i>IN SILICO</i> КОНТЕКСТНО-ЗАВИСИМЫХ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СПЕЦИФИЧЕСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ САЙТОВ В СОСТАВЕ ГЕНОМНОЙ ДНК.....	126
Пономаренко М.П.126	
THE COMPREHENSIVE ANALYSIS OF MOTIFS CO-OCCURRENCE IN CHIP-SEQ DATA WITH MCOT PACKAGE.....	127
Levitsky V.G., Oshchepkov D.Yu, Zemlyanskaya E.V., Mironova V.V., Merkulova T.I.127	
АННОТАЦИЯ ГЕНОМНЫХ ГРАФОВ.....	128
Петров С.Н.128	
SOFTWARE TOOL FOR ANALYSIS OF POSSIBLE ALIGNER ARTEFACTS IN SEQUENCING.....	129
Dergilev A.I., Naumenko F.M., Luzin A.N., Abnizova I.I., Orlov Y.L.129	
DOMESTICATION AND DIVERSIFICATION IN CHICKPEA.....	130
Samsonova M, Nuzhdin S130	
ИЗУЧЕНИЕ ЗАЦВЕТЕНИЯ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> С ПОМОЩЬЮ ТРАНСКРИПТОМОВ МЕРИСТЕМ И ЛИСТЬЕВ.....	131
Клепикова А.В., Пенин А.А.131	
ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ГЕННОЙ СЕТИ ВРЕМЕНИ ЦВЕТЕНИЯ В НУТЕ....	132
Гурский В.В., Козлов К.Н., Нуждин С.В., Самсонова М.Г.132	
МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АУКСИНА ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ МЕРИСТЕМЫ КОРНЯ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> .....	133
Савина М.С., Миронова В.В.133	
ЭВОЛЮЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ГЕННЫХ СЕТЕЙ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА РАСТЕНИЙ.....	134
Лашин С.А., Мустафин З.С., Замятин В.И., Константинов Д.К., Дорошков А.В., Афонников Д.А.134	
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ И МЕТА-ТРАНСКРИПТОМИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ ФЕРМЕНТОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ.....	135
Дорошков А.В., Бобровских А.В., Константинов Д.К.135	
SPATIAL-TEMPORAL MULTISCALE MODELLING AND SIMULATION OF VASCULAR TUMOUR GROWTH – DEVELOPMENT OF NEW MULTICELLULAR SIMULATORS BASED ON HYBRID PARALLELISATION OF CENTRAL AND GRAPHICAL PROCESSOR UNITS.....	136
Reuss M., Lapin A.,136	
EFFECT OF ENVIRONMENTAL STRESS ON LEGUME-RHIZOBIAL SYMBIOSIS: COMPLEMENTATION OF THE PROTEOMICS APPROACH WITH COMPREHENSIVE METABOLITE PROFILING.....	137
Bilova T.,Chantseva V.,Dorn M., Tsarev A.,Lukasheva E., Osmolovskaya N., Soboleva A.,Grishina T., Zhukov V.A., Balcke G.U., Tikhonovich I. A.,Wessjohann L. A., Frolov A.137	
PREDICTION OF REGULATORY SEQUENCE VARIANTS USING DATA FROM MULTIPLE PARALLEL REPORTER ASSAYS.....	138
Penzar D. D, Zinkevich A.O, Vorontsov I.E, Sitnik V.V., Favorov A.V, Makeev Vsevolod J., Kulakovskiy I. V.138	
RECONSTRUCTION OF ASSOCIATIVE GENE NETWORKS BASED ON AUTOMATIC EXTRACTION OF KNOWLEDGE FROM SCIENTIFIC PUBLICATIONS, PATENTS AND DATABASES USING INTELLIGENCE METHODS.....	139
Ivanisenko V.A., Tiys E.S., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S.139	
CAN SUBSTITUTIONS IN MITOCHONDRIAL PROTEIN SEQUENCE HAVE ADAPTIVE SIGNAL? CASE STUDY OF VOLES AND LEMMINGS, SUBFAMILY ARVICOLINAE, RODENTIA.....	140
Bondareva O., Potapova N., Abramson N. 140	

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ ЧЕЛОВЕКА .....	141
Акбердин И.Р., Киселев И.Н., Вертышев А., Попов Д.В., Колпаков Ф.А.141	
COMPARATIVE GENOMICS OF <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> REVEALS NEW FEATURES DETERMINING THE HOST-SPECIFICITY OR EFFICIENCY OF TOXIN PRODUCTION .....	142
Antonets K.S., Malovichko Yu.V. Afonin A.A., Belousova M.E., Ermolova V.P., Grishechkina S.D., Nizhnikov A.A.142	
<b>Симпозиум IV: Генетика человека / Symposium IV: Human Genetics</b> .....	143
ПОПУЛЯЦИОННАЯ ГЕНОМИКА ЧЕЛОВЕКА И ЭВОЛЮЦИОННАЯ МЕДИЦИНА.....	143
Степанов В.А.143	
ADVENTURES WITH LARGE BIOMEDICAL DATASETS: DISEASES, MEDICAL RECORDS, ENVIRONMENT AND GENETICS .....	144
Rzhetsky A.144	
ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ КОГНИТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ В НОРМЕ И ПРИ ПСИХОПАТОЛОГИЯХ. ....	145
Хуснутдинова Э.К., Еникеева Р.Ф., Казанцева А.В., Малых С.Б. 145	
ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ МУЛЬТИОМНЫЙ ПОДХОД ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СЛОЖНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА .....	146
Назаренко М.С., Слепцов А.А., Марков А.В., Королева Ю.А., Зарубин А.А., Шарыш Д.В., Валиахметов Н.Р., Казанцев А.Н., Бурков Н.Н., Барбараш О.Л., Пузырев В.П.146	
NGS СЕКВЕНИРОВАНИЕ КАК МЕТОД ПОИСКА НОВЫХ МАРКЕРОВ ОЖИРЕНИЯ И САХАРНОГО ДИАБЕТА 2.....	147
Глотов А.С., Барбитов Ю.А., Глотов О.С., Серебрякова Е.А., Предеус А.В., Полев Д.Е., Шувалова А.Р., Насыхова Ю.А., Покровская М.С., Мешков А.Н., Сивакова О.Н., Драпкина О.М., Васильев Е.В., Уразов С.П., Сарана А.М., Щербак С.Г., Баранов В.С.147	
ФЕНОМЕН СОЧЕТАННЫХ БОЛЕЗНЕЙ: ОТ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕХАНИЗМОВ К ПОИСКУ ЛЕКАРСТВЕННЫХ МИШЕНЕЙ .....	148
Брагина Е.Ю., Фрейдин М.Б., Бабушкина Н.П., Жалсанова И.Ж., Гончарова И.А., Иванисенко В.А., Досенко В.Е., Hofstaedt R., Назаренко М.С., Пузырев В.П.148	
FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF HUMAN REGULATORY VARIANTS BASED ON TRANSCRIPTOMIC DATA AND THEIR IMPLICATION IN PHENOTYPIC OUTCOME.....	149
Korbolina E.E., Bryzgalov L.O. , Merkulova T.I.149	
ОСОБЕННОСТИ ГЕНОФОНДА СМЕШАННОГО НАСЕЛЕНИЯ МЕГАПОЛИСА, ЗНАЧИМЫЕ ДЛЯ ЗАДАЧ ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИИ .....	150
Курбатова О.Л., Удина И.Г.150	
ПАЛЕОГЕНЕТИКА НАСЕЛЕНИЯ СИБИРИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ РЕГИОНОВ ЕВРАЗИИ .....	151
Пилипенко А.С. 151	
ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ЧЕЛОВЕКА И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ .....	152
Голубенко М.В., Зарубин А.А., Салахов Р.Р., Марков А.В., Бабушкина Н.П., Слепцов А.А., Тарасенко Н.В., Назаренко М.С., Пузырев В.П.152	
<b>Симпозиум V: Генетические основы селекции / Symposium V: The Genetic Basis for Breeding</b> .....	153
ПРОБЛЕМЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В АГРАРНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ.....	153
Донник И.М., Кривоногова А.С. , Исаева А.Г., Моисеева К.В.153	
ОПЫТ АГРОЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАСПОРТИЗАЦИИ СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В НАЦИОНАЛЬНОМ ЦЕНТРЕ ЗЕРНА ИМЕНИ П.П.ЛУКЬЯНЕНКО .....	154
Кудряшов И.Н., Пономарев Д.А., Лысак Н.И., Беспалова Л.А.154	
ОПУШЕНИЕ ЛИСТА ПШЕНИЦЫ: ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ, ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ .....	155
Афонников Д.А., Дорошков А.В., Генаев М.А., Симонов А.В., Осипова С.В., Пермяков А.В., Пермякова М.Д., Ефимов В.М., Пшеничникова Т.А.155	

МЕЖЛОКУСНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНОВ НИЗКОСТЕБЕЛЬНОСТИ ПШЕНИЦЫ И РЖИ В ГЕНОМЕ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ .....	156
Дивашук М.Г.156	
ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОАДАПТАЦИИ ПРИ СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ УСИЛЕНИЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ КЛИМАТА.....	157
Грабовец157	
ДЕФИЦИТНЫЙ ПО АБК МУТАНТ ЯЧМЕНЯ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВОДНОГО ОБМЕНА РАСТЕНИЙ И ВЫЯВЛЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ .....	158
Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р.158	
СЕЛЕКЦИЯ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП СПЕЛОСТИ С БЫСТРОЙ ОТДАЧЕЙ ВЛАГИ ЗЕРНОМ ПРИ СОЗРЕВАНИИ .....	159
Супрунов А.И., Парпуренко Н.В., Терещенко А.А.159	
СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОМА ПШЕНИЦЫ - НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ	160
Салина Е.А.160	
ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭПИГЕНЕТИКИ РАСТЕНИЙ .....	161
Эльконин Л.А., Герашенков Г.А., Кожемякин В.В., Панин В.М., Рожнова Н.А.161	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИ СОЗДАНИИ НОВЫХ ГЕНОТИПОВ <i>T.AESTIVUM</i> НА ОСНОВЕ ГИБРИДИЗАЦИИ С ВИДАМИ ЯЧМЕНЯ <i>H. VULGARE</i> И <i>H.MARINUM</i> SSP. <i>GUSSONEANUM</i> .....	162
Трубачеева Н.В., Першина Л.А.162	
СОВРЕМЕННЫЕ НЕБИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО УЛУЧШЕНИЯ СОИ .....	163
Зеленцов С.В., Мошненко Е.В., Саенко Г.М., Бубнова Л.А., Зеленцов В.С.163	
ПОЛИПЛОИДИЯ И ВИДООБРАЗОВАНИЕ У КОСТОЧКОВЫХ ПЛОДОВЫХ РАСТЕНИЙ РОДА <i>PRUNUS</i> L. ....	164
Еремин Г.В.164	
GAMETE-FUSION GENES EDITING IN MAIZE LINE.....	165
Chumakov M.I., Moiseeva Ye.M., Gusev Yu.S., Gutorova O.V., Volokhina I.V.165	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МАРКЕРНОЙ СЕЛЕКЦИИ РИСА .....	166
Костылев П.И., Краснова Е.В., Аксенов А.В.166	
ПОЛИМОРФИЗМ ЛОКУСОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК У ОБРАЗЦОВ КАРТОФЕЛЯ, КОНТРАСТНЫХ ПО ПРИЗНАКУ МУЖСКОЙ ФЕРТИЛЬНОСТИ/СТЕРИЛЬНОСТИ И ОБЛАДАЮЩИХ РАЗНЫМИ ТИПАМИ ЦИТОПЛАЗМ .....	167
Антонова О.Ю., Алпатъева Н.В., К.В. Егорова, Н.С. Клименко, Ю.И. Карабицына, Гавриленко Т.А.167	
ПОЛИМОРФИЗМ ОРТОЛОГОВ ГЕНА <i>ANTHOCYANIN 1</i> У ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР СЕМЕЙСТВА <i>SOLANACEAE</i> .....	168
Бабак О.Г., Некрашевич Н.А., Никитинская Т.В., Яцевич К.К., Кильчевский А.В.168	
ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ НЕХВАТОК ОТДЕЛЬНЫХ ХРОМОСОМ У ТЕТРАПЛОИДНОГО ХЛОПЧАТНИКА .....	169
Санамьян М.Ф.169	
НАСЛЕДОВАНИЕ МОНОГЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ПАРШЕ У ЯБЛОНИ.....	170
Савельева Н.Н., Лыжин А.С., Акимов М.Ю., Юшков А.Н.170	
ПЛЕЙОТРОПНЫЙ ЭФФЕКТ МУТАЦИЙ ЗАПАСНЫХ ЛИПИДОВ СЕМЯН ПОДСОЛНЕЧНИКА.....	171
Демуринов Я.Н., Борисенко О.М., Перетягина Т.М., Бочкарев Н.И., Рубанова О.А.171	
ПРЕДСЕЛЕКЦИОННОЕ ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ ВИР: РОЛЬ В СОВРЕМЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ .....	172
Митрофанова О.П., Хакимова А.Г., Пюккенен В.П., Лысенко Н.С., Дементьев А.В.172	
ДОМЕСТИКАЦИЯ, БИОРАЗНООБРАЗИЕ И АРХИТЕКТОНИКА ПШЕНИЦ.....	173
Гончаров Н.П.173	

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ СОРТОВ РИСА НА ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ .....	174
Зеленский Г.Л., Зеленская О.В.174	
ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР .....	175
Харченко П.Н.175	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ГЕКСАПЛОИДОВ С ГЕНОМОМ <i>AE. TAUSCHII</i> (AABBDD) И СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ .....	176
Шаманин В.П., Потоцкая И.В., Шепелев С.С., Пожерукова В.Е., Трущенко А.Ю., Чурсин А.С., Моргунов А.И.176	
РАЗНООБРАЗИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ И ДРУГИХ ПРИЗНАКОВ В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЛЬНА ВИР: ЕГО ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ .....	177
Брач Н.Б., Кутузова С.Н., Павлов АВ., Пороховинова Е.А.177	
СОЗДАНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ФОРМ ДЛЯ РАСШИРЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА ОСНОВЕ ГЕНОФОНДА ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ .....	178
Давоян Р. О., Бебякина И. В., Давоян Э. Р., Миков Д. С., Зубанова Ю. С., Болдаков Д. М., Зинченко А. С., Бадаева Е. К., Салина Е. А.178	
ЛОКАЛИЗАЦИЯ МУТАЦИЙ В ХЛОРОПЛАСТНОМ И МИТОХОНДРИАЛЬНОМ ГЕНОМАХ АЛЛОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ЦМС .....	179
Усатов А.В., Макаренко М.С., Азарин К.В., Гаврилова В.А.179	
<b>Симпозиум VI: Посттрансляционные процессы / Symposium VI: Posttranslational Processes</b> .....	180
FUNCTIONAL PRIONS AS EPIGENETIC REGULATORS .....	180
Derkatch I.L.180	
VARIANTS OF THE SUP35 PRION STRUCTURE AND THEIR RELATION TO THE [PSI <sup>+</sup> ] PHENOTYPE.....	181
Kushnirov V. V.181	
АМИЛОИДЫ – БЕСПОЩАДНЫЕ УБИЙЦЫ И НЕЗАМЕНИМЫЕ ПОМОЩНИКИ.....	182
Галкин А.П.182	
PHYSICAL PRINCIPLES BEHIND EPIGENETIC REGULATION OF CANONICAL AND CENTROMERIC NUCLEOSOMES .....	183
Papoian G.A.183	
ПОИСК И АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ПЕПТИДЕ АВЕТА-42 ЧЕЛОВЕКА, ВЛИЯЮЩИХ НА НУКЛЕАЦИЮ АМИЛОИДА .....	184
Маликова О.А., Зобнина А.Е., Чернов Ю.О., Рубель А.А.184	
КОАГРЕГАЦИЯ БЕЛКОВ В СОСТАВЕ АМИЛОИДОВ: КЛАССИФИКАЦИЯ И ПОИСК НОВЫХ ПРИМЕРОВ .....	185
Бондарев С.А.185	
PREDICTING RISK OF AMYLOIDOSES BY DETECTION OF STRUCTURAL DETERMINANTS OF AMYLOIDS IN PROTEINS .....	186
Kajava A.186	
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА, АССОЦИИРОВАННОЙ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ GBA. РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ЛЕЧЕНИЮ .....	187
Пчелина С.Н., Николаев М.А., Рычков Г.Н., Копытова А.Э., Сенкевич А.К., Байдакова Г.В., Милюхина И.В., Захарова Е.Ю., Емельянов А.К.187	
PATHOGENESIS OR SYMBIOSIS? PROBABLE ROLE OF FUNCTIONAL PROTEIN AGGREGATION IN DEVELOPING SUPRA-ORGANISMAL INTERACTIONS.....	188
Belousov M.V., Tikhonovich I.A., Antonets K.S., Belousova M.E., Shtark O.Y., Nizhnikov A.A.188	

ШАПЕРОНЫ ТРИГГЕР ФАКТОР И DНАК УЧАСТВУЮТ В ФОЛДИНГЕ, НО НЕ В РЕФОЛДИНГЕ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> .....	189
Гнучих Е. Ю., Манухов И. В.189	
КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПРОТЕОМА КАРТОФЕЛЯ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ СТРЕССЕ .....	190
Фесенко И.А., Мамаева А.С. , Спеченкова Н.А. , Згода В.Г., Калинина Н.О., Тальянский М.Э.190	
РОЛЬ N-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ БЕЛКА, КОДИРУЕМОГО ГЕННОЙ МАТРЕШКОЙ NЬKPIIP, В КОНТРОЛЕ ПРОПУСКНОЙ СПОСОБНОСТИ ПЛАЗМОДЕСМЫ.....	191
Ершова Н.М., Шешукова Е.В., Комарова Т.В., Дорохов Ю.Л.191	
MODEL SYNTHETIC PEPTIDES IN THE STUDY OF NON-ENZYMATIC POST-TRANSLATIONAL MODIFICATIONS (PTMs) OF PROTEINS .....	192
Frolova N., Nguyen V. D., Soboleva A.,Dinastia E., Mamontova T., Balcke G.U., Schmidt R., Herfurth, U. M. Birkemeyer C., Frolov A192	
YEAST RED PIGMENT AFFECTS EXPRESSION OF AMYLOID PROTEINS INVOLVED IN NEURODEGENERATION .....	193
Mikhailova E.V., Nevzglyadova O.V., Artemov A.V., Slobodina A.D, Sarantseva S.V., Soidla T.R.193	
<b>Симпозиум VII: Эволюционная генетика / Symposium VII: Evolutionary Genetics .....</b>	<b>194</b>
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЖУНГЛИ ДОКЕМБРИЯ.....	194
Гражданкин Д.В.194	
ГЕТЕРОХРОНИЯ В РАЗВИТИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОБЕГОВ РАСТЕНИЙ.....	195
Харченко В.Е., Щербаков Д. Ю., Marpha Telepova-Texier, Сигидиненко В. Е., Сигидиненко Л.И.195	
ЗООЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА: ВЕК НАЗАД И СЕГОДНЯ.....	197
Абрамсон Н.И.197	
MULTIGENE PHYLOGENY SUPPORTS A SINGLE MIGRATION OF THE MACULIPENNIS GROUP OF MALARIA MOSQUITOES FROM NORTH AMERICA TO EURASIA .....	198
Sharakhova M.V., Yurchenko A.A., Naumenko, A.N., Artemov G. N., Kokhanenko A. A., Bondarenko S. M., Velichevskaya A. I., Stegnyy V. N., Sharakhov I. V.198	
ГИБРИДИЗАЦИЯ, КЛОНАЛЬНОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ, ПОЛИПЛОИДИЯ И СЕТЧАТОЕ ВИДООБРАЗОВАНИЕ У АМФИБИЙ .....	199
Литвинчук С.Н., Боркин Л.Я., Скоринов Д.В., Пасынкова Р.А., Розанов Ю.М.199	
ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМА МАКРОСТОМИД: ПОЛНОГЕНОМНАЯ ДУПЛИКАЦИЯ, ДЕСТАБИЛИЗАЦИЯ И ПОСЛЕДУЮЩАЯ РЕДИПЛОИДИЗАЦИЯ ГЕНОМА.....	200
Задесенец К.С., Ершов Н.И., Рубцов Н.Б.200	
ПАРАЛЛЕЛИЗМ И КОНВЕРГЕНЦИЯ В ЭВОЛЮЦИИ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ ПОЗВОНОЧНЫХ .....	201
Трифонов В.А. 201	
ХРОМОСОМА, СПЕЦИФИЧНАЯ ДЛЯ ЗАРОДЫШЕВОЙ ЛИНИИ, У ПЕВЧИХ ПТИЦ .....	202
Малиновская Л.П., Задесенец К.С., Карамышева Т.В., Рубцов Н.Б., Торгашева А.А.202	
ВОЗНИКНОВЕНИЕ ВИРУСОВ И ЭВОЛЮЦИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСОВ И КЛЕТОК .....	203
Ким А.И., Нефедова Л.Н.203	
ГОМЕОБОКСНЫЕ ГЕНЫ НА РЕГУЛЯТОРНОМ ПЕРЕКРЕСТКЕ: ЧТО ИЗ НОВОГО – ХОРОШО ЗАБЫТОЕ СТАРОЕ? .....	204
Остен В.Г., Кулакова М.А.204	
НЕСТАЦИОНАРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ САЙТОВ.....	205
Базыкин Г.А.205	
REPETITIVE DNA IN THE ARCHITECTURE AND EVOLUTION OF THE PLANT GENOME: FROM A SINGLE CELL TO INTRASPECIFIC DIVERSITY AND SPECIATION .....	206
Raskina O.M.206	

ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ И ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> ЗАВИСЯТ ОТ ГЕНОТИПА ЕЕ ЭНДОСИМБИОНТА <i>WOLBACHIA PIPIENTIS</i> .....	207
Груntenко Н.Е., Адоньева Н.В., Андреевкова О.В., Бурдина Е.В., Быков Р.А., Илинский Ю.Ю., Раушенбах И.Ю.207	
THE DIVERSITY OF HEAT SHOCK PROTEIN (HSP) 70 TRANSCRIPTS IN LAKE BAIKAL ENDEMIC AMPHIPODS.....	208
Drozdova P.B., Bedulina D.S., Madyarova E.V., Rivarola-Duarte L., Schreiber S., Stadler P.F., Luckenbach T., Timofeyev M.A.208	
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ ШКОЛА ЭВОЛЮЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ: РАЗВИТИЕ СИНТЕТИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ ЭВОЛЮЦИИ И ЗАРОЖДЕНИЕ СИМБИОГЕНЕТИКИ.....	209
Проворов Н.А., Андронов Е.Е., Тихонович И.А.209	
<b>Симпозиум VIII: Структурная и функциональная протеомика / Symposium VIII: Structural and Functional Proteomics</b> .....	210
STRUCTURE DETERMINATION OF NEURODEGENERATIVE MISFOLDED PROTEIN AGGREGATES BY SHORT-DISTANCE CROSSLINKING CONSTRAINT-GUIDED DISCRETE MOLECULAR DYNAMICS (CL-DMD). ....	210
Petrotchenko E. V., Serpa J. J., Popov K. I., Dokholyan N. V., Borchers C. H.210	
ABSOLUTE QUANTIFICATION OF METABOLIC AND SIGNALING PATHWAYS .....	211
Shevchenko A.211	
MOLECULAR DESIGN FOR RESEARCH AND THERAPEUTICS.....	212
Dokholyan N.V.212	
ПРОТЕОГЕНОМИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ - ИДЕНТИФИКАЦИЯ МУТАНТНЫХ БЕЛКОВ В МАСШТАБЕ ПРОТЕОМА .....	213
Мошковский С.А., Кузнецова К.Г., Лобас А.А., Иванов М.В., Ключникова А.А., Згода В.Г., Горшков М.В.213	
ПРОТЕОМИКА АНТИТЕЛ .....	214
Вавилов Н.Э., Скворцов В.С. Згода В.Г.214	
ПОИСК НОВЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРА .....	215
Фисунов Г.Ю.215	
ОМИКСНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В РАСШИФРОВКЕ УСПЕШНОСТИ МЫСОВАСТЕРИУМ TUBERCULOSIS BEIJING B0/W148 КЛАСТЕРА .....	216
Шитиков Е.А., Беспятовых Ю.А., Гуляев А.С., Ильина Е.Н., Говорун В.М.216	
ПРОТЕОМ СЕКРЕТА КЛЕТОК СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ ТРЕХ ВИДОВ МЕДИЦИНСКИХ ПИЯВОК.....	217
Лазарев В.Н.217	
МЕЖИНДИВИДУАЛЬНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ FDA-ОДОБРЕННЫХ БЕЛКОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ.....	218
Новикова С.Е., Фарафонова Т.Е., Шушкова Н.А., Згода В.Г.218	
PROBING PLANT-MICROBIAL INTERACTIONS BY BOTTOM-UP PROTEOMICS: AGE-RELATED CHANGES IN LEGUME NODULE PROTEOME.....	219
Frolov A., Bilova T., Ihling C., Kim A., Tsarev A., Mamontova T., Lukashcheva E., Shumilina J., Checkina A., Romanovskaya E., Grishina T., Demchenko K., Tsyganov V., Sinz A., Zhukov V. A., Becana M., Matamoros M., Wessjohann L. A., Tikhonovich I A219	
<b>Симпозиум IX: Медицинская генетика и моделирование болезней человека / Symposium IX: Medical Genetics and Disease Modelling</b> .....	220
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ – ДЕТСКОЕ УВЛЕЧЕНИЕ ИЛИ ОСНОВА МЕДИЦИНЫ БУДУЩЕГО?.....	220
Баранов В.С.220	
КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПАТОГЕНЕЗА ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ .....	221
Лебедев И.Н., Серов О.Л.221	

КАК ПОЛУЧИТЬ НОВЫЕ ЗНАНИЯ О ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АРХИТЕКТУРЕ ПРИЗНАКОВ, НЕ РАСПОЛАГАЯ ИНФОРМАЦИЕЙ ОБ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ФЕНОТИПАХ И ГЕНОТИПАХ .....	222
Белоногова Н.М., Свищева Г.Р., Зоркольева И.В., Кириченко А.В., Аксенович Т.И.222	
ГЕНОМНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ И МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ: ЧТО ТАКОЕ ХОРОШО И ЧТО ТАКОЕ ПЛОХО .....	223
Ижевская В.Л.223	
О РОЛИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ТРОФОБЛАСТА .....	224
Кузнецова Т.В.224	
30-ЛЕТНИЙ ОПЫТ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ. ....	225
Иващенко Т.Э.225	
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ОПУХОЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ ДОСТАВКИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ НЕВИРУСНЫМИ МЕТОДАМИ .....	226
Киселев А.В., Егорова А.А., Петросян М.А., Маретина М.А., Швед Н.Ю., Полянских Л.С., Базиян Е.В., Балашова Н.Н., Баранов В.С.226	
ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ АДИПОГЕНЕЗА В ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ ГЕТЕРОТОПИЯХ: ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭНДОМЕТРИОЗА .....	227
Мальшева О.В., Осиновская Н.С., Швед Н.Ю., Ярмолинская М.И., Баранов В.С. 227	
МОНОГЕННЫЕ CNV: ЧАСТОТА, ПРОИСХОЖДЕНИЕ, КЛИНИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ .....	228
Кашеварова А.А., Скрябин Н.А., Лопаткина М.Е., Беляева Е.О., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н.228	
ИНДУКЦИЯ И САМОКОРРЕКЦИЯ АНЕУПЛОИДИЙ В ЭМБРИОНАХ ЧЕЛОВЕКА НА ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОМ ЭТАПЕ ОНТОГЕНЕЗА .....	229
Скрябин Н.А., Жигалина Д.И., Канбекова О.Р., Артюхова В.Г., Светлаков А.В., Лебедев И.Н.229	
DYSREGULATION OF POSTSYNAPTIC TRANSLATION IN AUTISM SPECTRUM DISORDER: RECONSTRUCTION OF GENE NETWORK ASSOCIATED WITH AUTISM AND MTOR SIGNALING .....	230
Trifonova E.A., Klimentko A.I., Saik O.V., Orlov Y.L., Lashin S.A., Ivanisenko V.A. 230	
ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА РЕДКИХ (ОРФАННЫХ) ЗАБОЛЕВАНИЙ ДО И ПОСЛЕ РОЖДЕНИЯ .....	231
Глотов О.С., Глотов А.С., Серебрякова Е.А., Туркунова М.Е., Башнина Е.Б., Барбитов Ю.А.Иващенко, Т.Э., Федяков М.А., Сарана А.М., Щербак С.Г., Баранов В.С.231	
ОТЦОВСКАЯ мтДНК ПЕРЕДАЕТСЯ В НЕСКОЛЬКИХ ПОКОЛЕНИЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ .....	232
Кидготко О.В., Соколова В.А., Кустова М.Е., Басс М.Г., Захарова Ф.М., Рунова О.Л., Васильев В.Б.232	
THE CHANGES OF EXPRESSION OF GENES ENCODING NEUROTROPHIC FACTORS AND THEIR RECEPTORS ASSOCIATED WITH PARKINSON'S DISEASE ON A MODEL OF HUMAN INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS .....	233
Novosadova E.V., Nenashva V.V., Makarova I.V., Dolotov O.V., Grivennikov I.A., Tarantul V.Z.233	
РОЛЬ АЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В РАЗВИТИИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ И РАКА ЖЕЛУДКА .....	234
Юсупова Л.Ф., Шаймарданова Э.Х., Нургалиева А.Х., Габбасова Л.В., Курамшина О.А., Крюкова А.Я., Мунасыпов Ф.Р., Хуснутдинов Ш.М., Сакаева Д.Д., Хуснутдинова Э.К.234	
АНАЛИЗ СПЕКТРА МУТАЦИЙ И ПОИСК НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ ИЗ РОССИИ .....	235
Филатова Е.В., Шадрина М.И., Н.С. Крылова, А.Е.Дёмкина, П.А. Сломинский235	
ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ХРОМОСОМНЫХ МИКРОДУПЛИКАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТЬЮ .....	236
Беляева Е.О., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н.236	

EXTRACELLULAR INFORMATION MOLECULES IN THE CANCER PATIENT BLOOD: WHAT DO THEY "TELL" ABOUT THE PATIENT .....	237
Рыкова Е.Ю. , Запорожченко И.А. , Пономарева А.А. , Брызгунова О.Е. , Лехнов Е.А. , Коношенко М.Ю. , Пашковская О.А. , Морозкин Е.С. , Власов В.В. , Чердынцева Н.В. , Ажикина Т.Л. , Лактионов П.П. 237	
<b>Симпозиум X: Селекция и биотехнология растений / Symposium X: Plant Biotechnology and Breeding .....</b>	<b>238</b>
THE HISTORY OF B CHROMOSOMES .....	238
Jones N.238	
КЛЕТОЧНАЯ ПАМЯТЬ И ПОЛИВАРИАНТНОСТЬ ОНТОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ.....	239
Ежова Т.А.239	
АНАЛИЗ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМОВ С ЦЕЛЮ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ .....	240
Карлов Г.И., Дивашук М.Г., Разумова О.В., Крупин П.Ю.240	
ЭФФЕКТИВНЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ НА ОСНОВЕ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЯ <i>STELLARIA MEDIA</i> ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР .....	241
Комахин Р. А.241	
ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ <i>HUP12;1</i> ГЕНА НА СПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК ЛИСТЬЕВ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА ПОГЛОЩАТЬ И УДЕРЖИВАТЬ ВОДУ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ .....	242
Шарипова Г.В., Кулуев Б.Р., Кудоярова Г.Р.242	
MASSIVE ANALYSIS OF CDNA ENDS (MACE-SEQ): VERSATILE NGS-BASED TRANSCRIPTOMICS FOR BASIC RESEARCH AND PRECISION BREEDING .....	243
Winter P, Horres R, Hoffmeier K, Jost L, Rodriguez A, Grunz F, Figueiredo R, Rotter B243	
РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ДУПЛИЦИРОВАННЫХ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА ФЛАВОНОИДОВ У ВИДОВ ТРИБЫ TRITICEAE .....	244
Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К.244	
ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ АГРОБАКТЕРИАЛЬНЫХ И СПОНТАННЫХ ОПУХОЛЕЙ РЕДИСА ( <i>RAPHANUS SATIVUS</i> L.) .....	245
Ткаченко А.А., Правдина О.Ю. , Предеус А.В., Додуева И.Е., Лутова Л.А.245	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.....	246
Денисова Е.Р., Байер М.А., Куприянова Е.В.246	
ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ НОВОЙ СТРАТЕГИИ ГЕТЕРОЗИСНОЙ СЕЛЕКЦИИ КАРТОФЕЛЯ.....	247
Гавриленко Т.А., Анисимова И.Н., Антонова О.Ю.,Клименко Н.Н., Алпатьева Н.В.247	
POLYPLOIDY, DIPLODIZATION AND KARYOTYPE EVOLUTION.....	248
Lysak M.A., Mandáková T., Pouch M., Guo X.248	
AMYLOIDS AND PRIONS IN PLANTS .....	249
Nizhnikov A.A., Antonets K.S.249	
РОЛЬ ПЕПТИДОВ СLE В РАЗВИТИИ ЗАПАСАЮЩИХ КОРНЕЙ И ПОБЕГОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ.....	250
Додуева И.Е., Ганчева М.С., Кузнецова К.А., Полюшкевич Л.О., Лутова Л.А.250	
МЕЖВИЛОВАЯ ГИБРИЛИЗАЦИЯ. ПОЛИПЛОИЛИЗАЦИЯ. ВТОРИЧНАЯ ЛИПЛОИЛИЗАЦИЯ КАК ПОВТОРЯЮЩИЙСЯ ПИКЛ В ЭВОЛЮЦИИ ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ: ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЯВЛЕНИЯ .....	251
Ролионов А.В., Гнвтиков А.А., Жврбенко П.М., Крайнова Л., Матейкович П.А., Мачс Э.М., Михайлова Ю.В., Носов Н.Н., Пунина Е.О., Шнеер В.С., Лоскутов И.Г., Муравенко О.В.251	
EVOLUTIONAL AND ECOLOGICAL ROLE OF APOMIXIS AND ASEXUAL REPRODUCTION .....	252
Brukhin V., Bakin E., Rayko M., Smetanin D., Mitchell-Olds T., Grossniklaus U.252	

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАСПОЗНАВАНИЯ ПАТОГЕНОВ РОДА <i>PESTOBACTERIUM</i> РАСТЕНИЯМИ СЕМЕЙСТВА ПАСЛЕНОВЫЕ .....	253
Колубако А.В., Бадалян О.А., Николайчик Е.А.	253
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ <i>CLE</i> У КАРТОФЕЛЯ .....	254
Ганчева М.С., Полюшкевич Л.О., Додуева И.Е, Лутова Л.А.	254
НОВЫЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНА <i>PPD-V1</i> МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ И ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ .....	255
Киселёва А.А., Салина Е.А.	255
<b>Симпозиум XI: Мутации, рекомбинация, репарация / Symposium XI: Mutations, DNA repair and recombination</b> .....	256
СВЯЗЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ С ПАРАМЕТРАМИ СПОНТАННОГО И ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАГЕНЕЗА В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА.....	256
Васильев С.А.	256
REGULATION OF BASE EXCISION REPAIR IN RESPONSE TO DNA DAMAGE .....	257
Dianov G.L.	257
РОЛЬ РЕПАРАЦИИ ДНК В ОБЕСПЕЧЕНИИ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА И ДОЛГОЛЕТИЯ.....	258
Лаврик О.И.	258
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ БЕЗОШИБОЧНОЙ ВЕТВИ ПОСТРЕПЛИКАТИВНОЙ РЕПАРАЦИИ.....	259
Королев В.Г.	259
MECHANISMS FOR CHROMOSOMAL BREAKAGE AND INVERTED DIMER FORMATION INDUCED BY PALINDROMIC REPEATS .....	260
Lobachev K.S., Sheng Z., Guo W., Costa A., Ait Saada A.	260
ДЕФЕКТЫ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ КАК ИСТОЧНИК ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В РАКОВЫХ ОПУХОЛЯХ ЧЕЛОВЕКА .....	261
Щербакова П.В.	261
ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ КРОССОВЕРНЫХ ОБМЕНОВ:РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ, КОИНЦИДЕНЦИЯ ГЕРМАНА МЁЛЛЕРА И НОВОСТИ 103 ГОДА СПУСТЯ.....	262
Михайлова Е.И.	262
EVOLUTION OF RECOMBINATION FEATURES: NUMERICAL MODELS AND EXPERIMENTS WITH <i>DROSOPHILA</i> .....	263
Rybnikov S.R., Aggarwal D.D., Frenkel Z.M., Rashkovetsky E., Michalak P., Korol A.B.	263
GENETIC INSTABILITY ASSOCIATED WITH BREAK-INDUCED REPLICATION .....	264
Malkova A., Osia B., Kockler Z., Elango R., Oliveira S., Comeron J.	264
ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УЧАСТИЯ ГЕНА <i>dRsf-1</i> В РЕПАРАЦИИ ДНК.....	265
Ильина Ю. А., Голубев А. М., Конев А. Ю.	265
BRCA2: MOLECULAR MEDIATOR IN HOMOLOGOUS RECOMBINATION .....	266
Lada A.G., Kowalczykowski S.C.	266
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРИОНОВ [ <i>PSI</i> <sup>+</sup> ] И [ <i>PIN</i> <sup>+</sup> ] ПРИВОДИТ К СНИЖЕНИЮ ЧАСТОТЫ ПРЯМЫХ МУТАЦИЙ <i>CAN</i> <sup>+</sup> И ЧАСТОТЫ НАРУШЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА, РЕГИСТРИРУЕМЫХ В АЛЬФА-ТЕСТЕ У ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> .....	267
Андрейчук Ю.В., Степченкова Е.И., Инге-Вечтомов С.Г.	267
КЛЕТОЧНО-ПОПУЛЯЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ В ОБНОВЛЯЮЩИХСЯ ТКАНЯХ .....	268
Кузин С.М., Богомолов Д.В.	268
<b>Симпозиум XII: Симбиогенетика и метагеномика / Symposium XII: Symbiogenetics and Metagenomics</b> .....	269
APPS AND OPERATING SYSTEMS: THE ORGANISATION OF BACTERIAL GENOMES AND SPECIES .....	269
Peter J., Young W.	269

МИКРООРГАНИЗМЫ ПОДЗЕМНОЙ БИОСФЕРЫ: ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ЭВОЛЮЦИЯ И БИОГЕОХИМИЧЕСКАЯ РОЛЬ .....	270
Кадников В.В., Марданов А.В., Равин Н.В.270	
НАСЛЕДУЕМЫЕ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СИМБИОНТЫ НАСЕКОМЫХ: РАЗНООБРАЗИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ .....	271
Илинский Ю.Ю., Быков Р.А., Деменкова М.А., Юрлова Г.В., Деменков П.С., Брошков А.Д., Данилова М.В., Вяткин Ю.В.271	
LEGUME <i>NODULE-ROOT-LIKE</i> GENES AND SYMBIOTIC ORGAN IDENTITY .....	272
Magne K., Liu S., Couzigou J-M, Schiessl K., Sahl L, Boyer F., Je. Georges, A. Iantcheva, K. S. Mysore, J. Wen, V. Zhukov, Giles E.D. Oldroyd, Ratet P.272	
SINGLE GAIN AND MASSIVE LOSS OF NITROGEN-FIXING NODULATION .....	273
Geurts R.273	
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ, МЕТАБОЛИЗИРУЮЩИХ АБСЦИЗОВОУЮ КИСЛОТУ .....	274
Гоголев Ю.В., Гоголева Н.Е., Коннова Т.А., Исмаилов Т.Т., Дмитриева С.А., Николайчик Е.А., Шапошников А.И., Юзихин О.С., Сафронова В.И., Белимов А.А.274	
СИМБИОЗ КАК ЭКСТРЕМАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ И ЭВОЛЮЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ .....	275
Андронов Е.Е., Проворов Н.А.275	
ЦИТОСКЕЛЕТ ОТ РАСТЕНИЙ К БАКТЕРИЯМ: ЭВОЛЮЦИОННЫЙ АСПЕКТ И БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ .....	276
Щеголев С.Ю.276	
FROM COMPARATIVE GENETICS TO COMPARATIVE CELL BIOLOGY OF LEGUME-RHIZOBIAL SYMBIOSIS .....	277
Tsyganov V.E., Kitaeva A.B., Kusakin P.G., Gorshkov A.P., Seliverstova E.V., Demchenko K.N., Brewin N.J., Tsyganova A.V.277	
RELATIONSHIP OF INTRASPECIES VARIABILITY OF PLANTS IN ADAPTATION TO TOXIC METALS AND INTERACTION WITH SYMBIOTIC MICROORGANISMS .....	278
Belimov A.A., Vishnyakova M.A., Shaposhnikov A.I., Azarova T.S., Makarova N.M., Sekste E.A., Puhalsky J.V., Loskutov S.I., Semenova E.V., Kosareva I.A., Safronova V.I.278	
TRANSCRIPTOMICS, METABOLOMICS AND PROTEOMICS OF SYMBIOSES OF GARDEN PEA ( <i>PISUM SATIVUM</i> L.): A NEW LOOK AT PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT IN A MULTICOMPONENT PLANT-MICROBIAL SYMBIOTIC SYSTEM.....	279
Zhukov V.A., Afonin A.M., Mamontova T., Ihling C., Soboleva A., Akhtemova G.A., Shtark O.Y., Zhernakov A.I., Kulaeva O.A., Kliukova M.S., Gribchenko E.S., Lukasheva E., Sulima A.S., Puzanskiy R.K., Shishova M.F., Sinz A., Frolov A., Tikhonovich I.A.279	
IDENTIFYING AND ENGINEERING GENES FOR <i>PARTHENOGENESIS</i> IN PLANTS .....	280
Vijverberg, K.280	
SEARCHING OF RECEPTORS AND SIGNAL TRANSDUCTION COMPONENTS INVOLVED IN REGULATION OF PEA-RHIZOBIAL SYMBIOSIS DEVELOPMENT.....	281
Dolgikh E.A., Kirienko A.N., Leppyanen I.V., Bovin A.D., Pavlova O.A., Dolgikh A.V., Tikhonovich I.A.281	
SHAPING GENOMES – THE PLANT-RHIZOBIUM PARTNERSHIP AS MODEL FOR UNDERSTANDING THE EVOLUTION OF SYMBIOSES .....	282
Mengoni A.282	
ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ <i>WOX</i> И <i>KNOX</i> В РАЗВИТИИ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ КАК КОМПОНЕНТЫ КОНСЕРВАТИВНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ МОДУЛЕЙ РАСТЕНИЙ.....	283
Лебедева М.А., Азарахш М., Лутова Л.А.283	
FEATURES OF THE HUMAN GUT RESISTOME DEVELOPMENT.....	284
Ilna E.N.284	
BENEFICIAL ENDOPHYTIC BACTERIA OF PEA ( <i>PISUM SATIVUM</i> L.).....	285
Akhtemova G., A. Afonin, E. Vasilyeva, V. Zhukov, A. Borisov, I.Tikhonovich 285	

<b>Симпозиум XIII: Редактирование генома / Symposium XIII: Genome Editing</b> .....	286
MOUSE GENOME ENGINEERING USING THE CRISPR/CAS9 SYSTEM FOR DIRECT OOCYTE MICROINJECTIONS .....	286
Skryabin B.V., Rozhdestvensky T.S., Gubar L.V., Seeger B., Kaiser H., Stegemann A.	286
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ НА ПРИМЕРЕ ЛОКУСА PDGFRA/KIT/KDR МЫШИ .....	287
Хабарова А.А., Кораблев А.Н., Рыжкова А.С., Лукьянчикова В.А., Баттулин Н.Р.	287
TARGETED MITOCHONDRIAL GENOME ELIMINATION .....	288
Mazunin I.O.	288
ALTERING PLANT DOMESTICATION TRAITS VIA SITE-DIRECTED GENOME MODIFICATION .....	289
Gerasimova S.V., Ivanova K.A., Hertig C., Korotkova A.M., Hiekel S., Kolosovskaya E., Koloshina K.A., Genaev M.A., Komyshev E.G., Egorova A.A., Domrachev D.V., Rogozina E.V., Kochetov A.V., Kumlehn J., Khlestkina E.K.	289
БЕЛКИ-РЕГУЛЯТОРЫ СОМАТИЧЕСКОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ.....	290
Творогова В.Е., Поценковская Э. А., Лутова Л.А.	290
РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМА МИКРОВОДОРОСЛИ <i>CHLAMYDOMONAS REINHARDTII</i> С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ САЙТ-СПЕЦИФИЧНЫХ НУКЛЕАЗ.....	291
Сизова И.А., Kelterborn S., Hegemann P., Kateriya S., Вербенко В.Н.	291
НОКАУТ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА <i>DES</i> С МУТАЦИЯМИ, ВЫЗЫВАЮЩИМИ КАРДИОМИОПАТИИ .....	292
Кочергин-Никитский К.С., Шестак А.Г., Заклязьминская Е.В., Болох С.А., Векшин Р.Д., Лавров А.В., Смирнихина С.А.	292
ПОИСК МИШЕНЕЙ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ РЕДАКТОРОВ ОСНОВАНИЙ.....	293
Кондратьева Е.В., Лавров А.В., Вареников Г. Г., Скоблов М.Ю., Смирнихина С.А.	293
TARGETED KNOCKOUT OF THE <i>PAIN-1</i> GENE IN <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> .....	294
Egorova A.A., Gerasimova S.V., Schedel S., Kumlehn J., Kochetov A.V.	294
РАЗРАБОТКА МЕХАНИЗМА ИНГИБИРОВАНИЯ НЕГОМОЛОГИЧНОГО СОЕДИНЕНИЯ КОНЦОВ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК ПРИ РЕДАКТИРОВАНИИ ГЕНОМА С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ CRISPR-CAS9 .....	295
Анучина А.А., Мозговой И.В., Первая Д.В., Зайнитдинова М.И., Иванова А.В., Лавров А.В., Смирнихина С.А.	295
ANALYSIS OF BARLEY MUTANT POPULATIONS OBTAINED BY SIMULTANEOUS MUTAGENESIS AT FOUR GENOMIC LOCI.....	296
Kolosovskaya E.V., Gerasimova S.V., Hertig C., Korotkova A.M., Kukoeva T.V., Hiekel S., Kochetov A.V., Kumlehn J., Khlestkina E.K.	296
KNOCKOUT OF NICOTINE BIOSYNTHESIS GENES IN <i>NICOTIANA TABACUM</i> USING RNA-GUIDED CAS ENDONUCLEASE.....	297
Spaselnikova A.V., Egorova A.A., Tomilin M.A., Schedel S., Kumlehn J., Kochetov A.V., Gerasimova S.V.	297
РЕДАКТИРОВАНИЕ МУТАЦИИ P.F508DEL В ГЕНЕ <i>CFTR</i> В ИПСК .....	298
Адильгереева Э.П., Анучина А.А., Кондратьева Е.В., Устинов К.Д., Ясиновский М.И., Кочергин-Никитский К.С., Зайнитдинова М.И., Мозговой И.В., Лавров А.В., Смирнихина С.А.	298
ГЕН <i>F3'5'N-1</i> ЯЧМЕНЯ КАК МИШЕНЬ ДЛЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ.....	299
Вихорев А.В., Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К.	299
<b>Симпозиум XIV: Дифференцировка и стволовые клетки / Symposium XIV: Stem Cells and Differentiation</b> .....	300
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК.....	300
Томилин А.Н.	300

РЕГЕНЕРАЦИЯ КОЖИ: МОРФОГЕНЕЗ, СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ВОЗМОЖНОСТИ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ.....	301
Воротеляк Е.А., Бейлин А.К., Гурская Н.Г., Калабушева Е.П., Рябинин А.А., Черных Э.С.301	
НОВЫЙ МАРКЕРНЫЙ ПРИЗНАК НИЗКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК ЭУКАРИОТ И ОБЛАСТИ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ.....	302
Богачев С.С., Проскурина А.С., Поттер Е.А., Долгова Е.В., Риттер Г.С., Андрушкевич О.М., Ефремов Я.Р., Байбородин С.И., Николин В.П., Попова Н.А., Леплина О.Ю., Останин А.А., Черных Е.Р, Мишинов С.В., Ступак В.В., Таранов О.С., Сидоров С.В., Колчанов Н.А.302	
ПОСЛЕДСТВИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ В ХОДЕ ХИМИОТЕРАПИИ.....	303
Демидов О.Н., Кочеткова Е.Ю., Григораш Б.Б.303	
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЭФФЕКТОВ ДЕЛЕЦИИ И ДУПЛИКАЦИИ ГЕНА <i>CNTN6</i> НА НЕЙРОГЕНЕЗ <i>IN VITRO</i> .....	304
Шнайдер Т.А., Гридина М.М., Ульянов С. В., Фишман В.С., Белокопытова П., Лебедев И.Н., Серов О.Л.304	
СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА У РАСТЕНИЙ.....	305
Лутова Л.А., Додуева И.Е., Ткаченко А.А., Маловичко Ю.А., Правдина О.А.305	
УРОВЕНЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ ПРИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ В МОТОНЕЙРОНЫ ИНДУЦИРОВАННЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С РАЗНОЙ ТЯЖЕСТЬЮ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИЕЙ.....	306
Маретина М.А., Цыганова Н.А., Штыкалова С.В., Егорова А.А., Валетдинова К.Р., Закиян С.М, Баранов В.С., Киселев А.В.306	
ИНДУЦИРОВАННЫЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ДИНАМИЧЕСКОГО МОЗАИЦИЗМА КОЛЬЦЕВЫХ ХРОМОСОМ .....	307
Никитина Т.В., Мензоров А.Г., Васильев С.А., Гридина М.М., Хабарова А.А., Яковлева Ю.С., Распопова М.А., Кашеварова А.А., Серов О.Л., Лебедев И.Н.307	
ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫЕ МЕЗЕНХИМНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА, ИЗБЕЖАВШИЕ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ ПОСЛЕ СУБЛЕТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕПЛОВОГО ШОКА, СОХРАНЯЮТ ГЕНЕТИЧЕСКУЮ БЕЗОПАСНОСТЬ.....	308
Шилина М.А., Гринчук Т.М., Алексеенко Л.Л., Анацкая О.В., Виноградов А.Е., Никольский Н.Н.308	
<b>Симпозиум XV: Селекция и биотехнология животных / Symposium XV: Animal Biotechnology and Breeding.....</b>	<b>309</b>
CRISP/CAS9 INTERSECTIONAL SOMATIC KNOCKOUTS TO STUDY INTRACELLULAR SIGNALING IN DEFINED NEURONAL CIRCUITS. ....	309
Khlghatyan J., Beaulieu J.-M.309	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОМИКСНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МАРКЕРОВ КАЧЕСТВА ГАМЕТ В РЕПРОДУКЦИИ И СЕЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ.....	310
Узбекова С.В.310	
MOLECULAR MARKERS: FROM MODERN GENERAL BIOLOGY PARADIGM VALIDATION TO SEA FOOD MISLABELING DETECTION.....	311
Kartavtsev Yu.Ph.311	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ И МЕТАБАРКОДИНГА ДЛЯ АНАЛИЗА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ И КОРМОВ. ....	312
Попов В.Н.312	
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛАССИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ У КУР: ФАКТЫ И ГИПОТЕЗЫ .....	313
Галкина С.А., Сайфитдинова А.Ф., Комиссаров А.С., Кулак М.М., Володькина В.А., Гагинская Е.Р.313	
ПЕРСПЕКТИВА ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ МОЛОЧНОГО СКОТА В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ.....	314
Смарагдов М.Г., Кудинов А.А.314	

СИНАПСИС И РЕКОМБИНАЦИЯ У БАРАНОВ, ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ ПО МЕТАЦЕНТРИЧЕСКОЙ ХРОМОСОМЕ 3 ДОМАШНЕЙ ОВЦЫ <i>OVIS ARIES</i> И АКРОЦЕНТРИЧЕСКИМ ГОМОЛОГАМ АРХАРА <i>OVIS AMMON</i> .....	315
Бикчурина Т.И., Багиров В.А., Волкова Н.А., Бородин П.М. 315	
СИСТЕМА КОНТРОЛЯ ПЛЕМЕННОЙ ЦЕННОСТИ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПОРОДНЫХ ЛИНИЙ .....	316
Николенко А.Г., Каскинова М.Д., Гайфуллина Л.Р., Салтыкова Е.С.316	
НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ДЕФЕКТЫ, ВЫЯВЛЕННЫЕ В БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ГАПЛОТИПАМИ ФЕРТИЛЬНОСТИ .....	317
Михайлова М.Е., Киреева А.И., Романишко Е.Л., Камыш Н.А., Тиханович Н.И., Шейко Р.И.317	
ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИНИЙ МЫШЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ CRISPR/CAS9 СИСТЕМЫ.....	318
Леонова Е.И., Гайнетдинов Р.Р.318	
<b>Симпозиум XVI: Регуляция действия гена и эпигенетика / Symposium XVI: Regulation of Gene Expression and Epigenetics</b> .....	319
СКРИНИНГ БИОРАЗНООБРАЗИЯ .....	319
Габибов А.319	
ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРА СБОРКИ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ХРОМАТИНА CHD1. ....	320
Конев А.Ю., Тютюнник А.А., Ильина Ю.А., Барановская И.Л., Кучинская Я.А., Торощина А.В., Гненная Ю.А., Шалаев А.В..320	
EXPRESSION OF EPIGENETIC PROTEINS AND HISTONE MODIFICATIONS IN PENUMBRA IN THE RAT CEREBRAL CORTEX AFTER PHOTOTHROMBOTIC STROKE .....	321
Demyanenko S.V., Dzreyan V.A., Guzenko V.V., Uzdensky A.B.321	
МЕТИЛИРОВАНИЕ ПСЕВДОГЕНА <i>PENP1</i> В ТКАНЯХ ЭНДОМЕТРИЯ И РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЯХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА .....	322
Коваленко Т.Ф. Морозова К.В., Лапина И.А., Бобров М.Ю., Озолиня Л.А., Патрушев Л.И.322	
ХРОМАТИНОВЫЕ ДОМЕНЫ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ В ИНТЕРФАЗНОМ ЯДРЕ И НА СТАДИИ ХРОМОСОМ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК.....	323
Красикова А.В., Фишман В.С., Нуритдинов М.А., Батулин Н.Р., Серов О.Л., Лир Т., Маслова А.В., Старшова П.А., Суркова А.Ю., Куликова Т.В., Злотина А.М.323	
ОСНОВНАЯ И СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЕ ФУНКЦИИ ЭВОЛЮЦИОННО КОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА NXF1 (NUCLEAR EXPORT FACTOR 1) У ЖИВОТНЫХ .....	324
Мамон Л.А., Гинанова В.Р., Якимова А.О., Кливер С.Ф., Пасынков А.И., Голубкова Е.В.324	
SMALL SUPERNUMERARY MARKER CHROMOSOMES (SSMC); GENOTYPE-PHENOTYPE CORRELATION COMPLICATED BY A CHROMOTHIRPSIS LEADING TO DISCONTINUOUS STRUCTURE.....	325
Liehr T. 325	
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПРИРОДА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАДАТКОВ В СВЕТЕ РАЗНООБРАЗИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ.....	326
Тиходеев О.Н.326	
THE [SWI <sup>+</sup> ] PRION FORMATION AND <i>SWI1</i> DELETION EXHIBIT DIFFERENT AND HIGHLY SPECIFIC TRANSCRIPTOME-WIDE EFFECTS IN YEAST <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> ....	327
Malovichko Y. V.,Antonets K. S.,Maslova A.R.,Andreeva E. A., Inge-Vechtomov S.G., Nizhnikov A. A.,327	
МЕХАНИЗМЫ ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ РЕПРЕССИИ ПОВРЕЖДЕННЫХ ГЕНОВ РИБОСОМНОЙ РНК.....	328
Клёнов М. С., Фефелова Е. А., Михалева Е. А., Пирогов С. А., Гвоздев В. А.328	
ГОРЯЧАЯ ТОЧКА РАЗРЫВА ХРОМОСОМЫ У МУТАНТОВ <i>SCREWY</i> ИНФУЗОРИЙ <i>PARAMECIUM TETRAURELIA</i> .....	329
Некрасова И.В., Никиташина В.Д., Майер Э., Потехин А.А.329	
<b>Симпозиум XVII: Популяционная генетика / Symposium XVII: Population genetics</b> .....	330

POSTGENOMIC TECHNOLOGIES IN PRACTICAL FORESTRY: DEVELOPMENT OF DNA MARKERS AND POPULATION GENETIC DATABASES FOR TIMBER ORIGIN IDENTIFICATION, GENETIC MONITORING, BREEDING AND OTHER APPLICATIONS .....	330
Krutovsky K. V. 330	
НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА СРЕДИ ПОТОМКОВ ОБЛУЧЕННЫХ РОДИТЕЛЕЙ.....	331
Дуброва Ю.Е.,331	
THE ROLE OF THEORETICAL POPULATION GENETICS IN UNDERSTANDING SPECIES DIVERSIFICATION.....	332
Gavrilets S.332	
ЭКСКУРСИЯ ПО ГАЛЕРЕЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОРТРЕТОВ.....	333
Балановская Е.В., Балановский О.П.333	
НАУЧНОЕ НАСЛЕДИЕ Ю.П. АЛТУХОВА И СОВРЕМЕННЫЕ ПОЛХОЛЫ К АНАЛИЗУ АДАПТИВНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ .....	334
Политов Д.В., Салменкова Е.А., Крутовский К.В. 334	
ГЕНОФОНД НАРОДОНАСЕЛЕНИЯ РОССИИ В КОНТЕКСТЕ ГЕНОФОНДА МИРА: АУТОСОМНЫЕ И Y-ХРОМОСОМНЫЕ ПРОЕКЦИИ .....	335
Балановский О.П.335	
ГЕНОФОНД ФИННО-УГОРСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ: ЛЕТОПИСЬ МИГРАЦИЙ ПОСЛЕДНИХ ПЯТИ ТЫСЯЧЕЛЕТИЙ.....	336
Агджоян А.Т., Лукьянова Е.Н., Кагазежева Ж.А., Романов А.Г., Балановский О.П., Балановская Е.В.336	
ЕНИСЕЙСКИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СУБСТРАТ В ГЕНОФОНДЕ КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОЙ И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ .....	337
Харьков В.Н., Новикова Л.М., Хитринская И.Ю., Степанов В.А.337	
THE GenomeAsia100K PILOT COMPLETE: GENETIC DIVERSITY ACROSS ASIA .....	338
Gusareva E.S., Kim H.L., Schuster S.C.338	
UNRECOMBINED CHROMOSOMAL TRACTS IDENTICAL-BY-DESCENT PROVIDE INSIGHT INTO RECENT POPULATION HISTORY .....	339
Yunusbayev B.B., Yunusbayev U.B., Tambets K. , Valiev R.R. VILLEMS R.339	
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСНОВ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН.....	340
Литвинов С.С., Валинуров Р.Г., Карунас А.С., Еникеева Р.Ф., Казанцева А.В., Хуснутдинова Э.К.340	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВЕДЕНИЯ ДОМЕСТИЦИРОВАННЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ .....	341
Столповский Ю.А., Лазебная И.В., Оюн Н.Ю., Коноров Е.А., Артюшин И.В., Каштанов С.Н., Свищева Г.Р.341	
КЛОНАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ЕГО ПРОИСХОЖДЕНИЕ У ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ВИДОВ ЯЩЕРИЦ РОДА <i>DAREVSKIA</i> .....	342
Рысков А.П.342	
СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИКИ ВИДООБРАЗОВАНИЯ.....	343
Стегний В.Н.343	
ПРЕСНОВОДНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ ТРЕХИГЛОЙ КОЛЮШКИ <i>GASTEROSTEUS ACULEATUS</i> L КАК МОДЕЛЬ ВИДООБРАЗОВАНИЯ.....	344
Мюге Н.С., Тереханова Н.В., Барминцева А.Е., Мюге Л.Н.Булахов А.Г.344	
РЕПРОДУКТИВНЫЕ СИМБИОНТЫ-ПРОКАРИОТЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ НАСЕКОМЫХ – МНОГООБРАЗИЕ СИМБИОНТНЫХ СИСТЕМ, МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПАРТНЕРОВ И ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИИ НА АДАПТАЦИЮ ХОЗЯИНА .....	345
Горячева И.И.345	
ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ ТРЕНДЫ В РАСПРОСТРАНЕНИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА И ИММУННОГО ОТВЕТА В ПОПУЛЯЦИЯХ КОРЕННЫХ НАРОДОВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ.....	346
Лавряшина М.Б., Ульянова М.В., Имекина Д.О., Остроухова И.О., Козлов А.И., Тычинских З.А., Падюкова А.Д.346	

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОРОД КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА <i>BOS TAURUS</i> ЕВРОПЕЙСКОГО И АЗИАТСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ОСНОВЕ SNP РЯДА ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ.....	347
Лазебная И.В., Перчун А.В., Лазебный О.Е.347	

<b>Симпозиум XIX: Генетика поведения, старения и нейрогенетика / Symposium XIX: Genetics of Ageing, Behavior and Neurogenetics</b> .....	348
--	-----

КЛЮЧ К СЕЛЕКЦИИ СОБАК ПО ТИПАМ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И.П. ПАВЛОВА И ПО ПРИРУЧЕННОСТИ ЛИС Д.К. БЕЛЯЕВА: ГЕНОМНОЕ РАССТРОЙСТВО СИНДРОМ ВИЛЛЬЯМСА-БОЙЕРНА И ГИПЕРСОЦИАЛИЗАЦИЯ.....	348
Савватеева-Попова Е.В., Журавлев А.В., Медведева А.В.348	

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РАЗВИТИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛЕЙ НА ДРОЗОФИЛЕ.....	350
Никитина Е.А., Медведева А.В., Журавлев А.В., Токмачева Е.В., Васильева С.А., Заломаева Е.С., Иванова П.Н., Захаров Г.А., Савватеева-Попова Е.В.350	

ГЕНЕТИКА СОЦИАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ ДРОЗОФИЛЫ.....	351
Камышев Н.Г., Беседина Н.Г., Брагина Ю.В., Гончарова А.А., Даниленкова Л.В.351	

НЕЙРОГЕНЕТИКА РИТМИЧЕСКИХ МОТОРНЫХ ФУНКЦИЙ ДРОЗОФИЛЫ.....	352
Брагина Ю.В., Федотов С.А., Камышев Н.Г.352	

НЕЙРОГЕНЕТИКА И НЕЙРОЭПИГЕНЕТИКА ДЕЗАДАПТИВНЫХ СОСТОЯНИЙ, ЗАВИСИМЫХ ОТ ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ.....	353
Дюжикова Н.А., Вайдо А.И., Левина А.С., Павлова М.Б., Ширяева Н.В.353	

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК МЫШИ В МОДЕЛИ ОЛЬФАКТОРНОГО СТРЕССА.....	354
Глинин Т. С., Поденкова У. И., Бурунсуз А. В., Мамонтова В. А., Старшова П. А., Даев Е. В.354	

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭКО.....	355
Мошкин М.П., Герлинская Л.А.355	

ЕPIGENETIC REGULATION OF CONTEXT MEMORY MAINTENANCE.....	356
Balaban P.M. , Vinarskaya A., Zuzina A.356	

STOCHASTICITY OF RNA “BIRTH/DEATH” RATE IS INTRINSICALLY DETERMINED BY DNA SEQUENCE CONTEXT AND EXTRINSICALLY MODULATED BY METABOLIC CUES AND AGING.....	357
de Jong T.V., Guryev V., Moshkin Y. M.357	

GENETICS OF LONGEVITY AND AGING.....	358
Moskalev A.A.358	

CALCIUM HYPOTHESIS OF ALZHEIMER’S DESEASE: PRO ET CONTRA AND NEW DISCOVERIES.....	359
Ryazantseva M.A., Skobeleva K.V., Kaznacheyeva E.V.359	

INDEPENDENT AND AGE-SPECIFIC ASSOCIATIONS OF <i>TOMM40</i> AND <i>APOE</i> POLYMORPHISMS WITH BODY MASS INDEX: EVIDENCE FROM REPRODUCTIVE TO OLDEST-OLD AGES.....	360
Kulminski A.M., Loika Y. Arbeev K.G., Yashin A.I., Culminskaya I.360	

РОЛЬ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В НЕЙРОПАТОЛОГИИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ <i>MTE</i> ЧЕЛОВЕКА.....	361
Саранцева С.В., Рябова Е.В., Комиссаров А.Е. Сурина Н.В., Жмуйдина Д.Р., Рябова Е.В.361	

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА ОСОБЕЙ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> С ПОДАВЛЕННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА <i>SWISS CHEESE</i> .....	362
Мелентьев П.А., Рябова Е.В., Комиссаров А.Е., Шарапенков Э.Г., Саранцева С.В.362	

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РОЛИ GDNF В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ НЕРВНЫХ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ.....	363
Павлова Г.В. , Шамадыкова Дж.В., Пантелеев Д.Ю., Ревещин А.В.363	

ЛЮДИ И ГЕНЫ: КОЭВОЛЮЦИЯ КУЛЬТУРЫ И ГЕНОМА.....	364
Маркель А. Л.364	
<b>Симпозиум XX: Селекция и биотехнология микроорганизмов / Symposium XX: Biotechnology and breeding of microorganisms .....</b>	<b>365</b>
ОБРАЩЕННОЕ БЕТА-ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ – ГИБКАЯ БИОХИМИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО БИОСИНТЕЗА ШИРОКОГО СПЕКТРА ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ПРОМЫШЛЕННО ЗНАЧИМЫХ ХИМИКАТОВ .....	365
Гулевич А.Ю., Скороходова А.Ю., Дебабов В.Г.365	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОМНОЙ И МЕТАГЕНОМНОЙ ИНФОРМАЦИИ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ .....	366
Карначук О.В.366	
МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КЛЮЧЕВЫХ ИНТЕРМЕДИАТОВ СИНТЕЗА ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ ИЗ ПРИРОДНЫХ СТЕРИНОВ .....	367
Донова М.В., Довбня Д.В., Карпов М.В., Ивашина Т.В., Брагин Е.Ю., Замалутдинов А.В., Фокина В.В., Стрижов Н.И.367	
АНАЛИЗ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВИНА ТИПА ХЕРЕС, С ПОМОЩЬЮ ГЕНОМНЫХ И ТРАНСКРИПТОМНЫХ ПОДХОДОВ ВЫЯВИЛ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ, ОТОБРАННЫЕ В ХОДЕ ДОМЕСТИКАЦИИ.....	368
Эльдаров М.А., Белецкий А.В., Танащук Т.Н., Кишкковская С.А., Равин Н.В., Марданов А.В.368	
COORDINATED REGULATION OF NUTRIENT METABOLISM GENES IN METHYLOTROPHIC YEAST <i>PICHLIA PASTORIS</i> .....	369
Rumyantsev A.M., Volkov A.A., Ivanova A.V., Sidorin A.V., Sharaev N.I.369	
КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ МЕТАБОЛИЗМА ПРОКАРИОТ В ПРОСТРАНСТВЕННО-ГЕТЕРОГЕННЫХ СРЕДАХ .....	370
Матушкин Ю.Г., Клименко А.И., Мустафин З.С., Лашин С.А.,370	
<b>Круглый стол: Этические, правовые и социальные аспекты генетических и геномных исследований / Round Table: Ethical, legal and social aspects of genetic and genomic research..</b>	<b>371</b>
ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ПРИМЕРЕ КОНСТРУИРОВАНИЯ ПРОМЫШЛЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ .....	371
Воейкова Т.А., Скороходова А.Ю., Журавлева О.А., Новиков А.Д., Дебабов В.Г.371	
ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫЙ ОПЫТ РЕГУЛИРОВАНИЯ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПРИМЕНЕНИЯ ИХ РЕЗУЛЬТАТОВ (НА ПРИМЕРЕ СТРАН ВОСТОЧНОЙ И ЮГО- ВОСТОЧНОЙ АЗИИ).....	372
Трикоз Е.Н.372	
ПРАВОВАЯ РЕГЛАМЕНТАЦИЯ БИОЭТИЧЕСКИХ И ГЕНОМНЫХ АСПЕКТОВ В СТРАНАХ ИБЕРОАМЕРИКАНСКОГО РЕГИОНА.....	374
Гуляева Е.Е.374	
ФИЛОСОФСКИЙ АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ ТЕНДЕНЦИЙ ЭТИКО-ПРАВОВОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ГЕНЕТИКИ КАК НАУКИ И ПРАКТИКИ.....	375
Тищенко П. Д.375	
ЭТИЧЕСКИЕ И СОЦИАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	376
Боринская С.А.376	
НОРМАТИВНЫЕ ТЕОРИИ СПРАВЕДЛИВОСТИ И ПРАВОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИКИ .....	377
Шевченко С.Ю.377	
ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ ВОПРОСОВ БИОЭТИКИ ВО ФРАНЦИИ: ОПЫТ ДЛЯ РОССИИ .....	378
Захарова М. В.378	
БИОЭТИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА: ПРОБЛЕМЫ ЮРИДИЧЕСКОЙ ИНТЕРПРЕТАЦИИ .....	379
Лапаева В. В379	

СОЦИАЛЬНОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА .....	380
Халтурин А.Н.380	
<b>Круглый стол: Генетическое образование / Round Table: Genetic Education</b> .....	381
НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ. ПАРАДИГМА И ПАРАДОКСЫ. ....	381
Инге-Вечтомов С.Г.381	
ПРЕПОДАВАНИЕ ГЕНЕТИКИ: ОТ КЛАССИЧЕСКИХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ К КОМПЛЕКСНОМУ ОПИСАНИЮ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ .....	382
Рувинский А.О.382	
ПРОБЛЕМЫ ПРЕПОДАВАНИЯ ОСНОВ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ СТРЕМИТЕЛЬНОГО НАКОПЛЕНИЯ НОВЫХ ДАННЫХ О СТРУКТУРЕ, ФУНКЦИИ И ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМА ПРО- И ЭУКАРИОТ.....	383
Рубцов Н.Б.383	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗНАНИЯ В КЛИНИЧЕСКОМ МЫШЛЕНИИ .....	384
Пузырев В.П., Салюкова О.А., Яковлева Ю.О.384	
ШКОЛА ПО АГРОБИОЛОГИИ И ГЕНЕТИКЕ РАСТЕНИЙ В ОЦ «СИРИУС»: ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ .....	385
Матвеева Т.В.385	
<b>Круглый стол: История генетики / Round Table: The History of Genetics</b> .....	386
ПРЕЗЕНТАЦИЯ КНИГИ ФОКИНА С.И. И ЗАХАРОВА-ГЕЗЕХУСА И.А. «ЮРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ ФИЛИПЧЕНКО И ЕГО ОКРУЖЕНИЕ. К 100-ЛЕТИЮ ОСНОВАНИЯ КАФЕДРЫ ГЕНЕТИКИ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЗООЛОГИИ В ПЕТРОГРАДСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ».....	386
Захаров-Гезехус И.А.386	
ПРЕДСТАВЛЕНИЕ КНИГИ «ГЕНЕТИКА ВЧЕРА И СЕГОДНЯ. К 100-ЛЕТИЮ КАФЕДРЫ ГЕНЕТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ СПБГУ».....	387
Инге-Вечтомов С.Г.387	
ПОЧЕМУ СЕЛЕКЦИОНЕРЫ РАСТЕНИЙ ПРИНЕСЛИ МЕНДЕЛИЗМ В РОССИЮ?.....	388
Гончаров Н.П.388	
5-Й МЕЖДУНАРОДНЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНГРЕСС ГЛАЗАМИ Ю.А. ФИЛИПЧЕНКО..	389
Авруцкая Т.Б.389	
ПРОТИВОСТОЯНИЕ КОНЦЕПЦИЙ АВТОГЕНЕЗА И ЭКТОГЕНЕЗА В РОССИЙСКОЙ ГЕНЕТИКЕ В 1920-е гг. ....	390
Ермолаев А.И.390	
О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ И ЗАРУБЕЖНЫХ ГЕНЕТИКОВ В РУКОПИСНОМ НАСЛЕДИИ Ф. Г. ДОБРЖАНСКОГО.....	391
Конашев М.Б.391	
ПРОВИДЕЛ ЛИ Н.К. КОЛЬЦОВ «МАТРИЧНЫЙ ПРИНЦИП» .....	392
Хромов-Борисов Н.Н.392	
ЭСТЕТИКА ПРИРОДЫ – НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В КЛЮЧЕ РАЗВИТИЯ НАСЛЕДИЯ Н.И. ВАВИЛОВА.....	393
Булатова Н.Ш.393	
СПОРНЫЕ ВОПРОСЫ И ДИСКУССИИ В ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ГЕНЕТИКЕ .....	394
Асланян М.М.394	
«НЕ ПРОИГРЫВАЙТЕ ВЫИГРЫШНЫХ ПАРТИЙ» ИЛИ БЛИСТАТЕЛЬНЫЙ ОПЫТ ВЫЖИВАНИЯ КАФЕДРЫ ГЕНЕТИКИ ЛГУ ПОСЛЕ СЕССИИ ВАСХНИЛ В КОЛТУШАХ: ПАВЛОВ, ОРБЕЛИ, ЛОБАШЕВ.....	395
Савватеева-Попова Е.В.395	
НЕОЛНОЗНАЧАЯ РЕАКЦИЯ ПАРТИЙНЫХ ВЛАСТЕЙ ЛЕНИНГРАДА НА УЧЕБНИК М.Е. ЛОБАШЕВА .....	397
Колчинский Э.И.397	

МЕЖДУНАРОДНЫЕ СВЯЗИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ГЕНЕТИКОВ В 1960-Е ГГ.....	398
Шалимов С.В.	398
<b>Ассоциированный симпозиум: Биоресурсные коллекции и геномные биобанки / Associate Symposium: Bioresource Collections and Genomic Biobanks.....</b>	
БИОРЕСУРСНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ИНСТИТУТОВ МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ: ОПЫТ ИНВЕНТАРИЗАЦИИ И РАЗВИТИЯ.....	399
Колчанов Н.А.	399
ЗООЛОГИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ В АКАДЕМИЧЕСКИХ ИНСТИТУТАХ: СТАТУС КОЛЛЕКЦИЙ, ПРОБЛЕМЫ УПРАВЛЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ.....	400
Пугачев О.Н., Войта Л.Л., Ананьева Н.Б., Абрамов А.В.	400
ОПЫТ СОЗДАНИЯ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ.....	401
Мошкин М.П.	401
IS IT REALISTIC TO CREATE A BANK OF MARINE GENETIC RESOURCES ON THE BASIS OF MARINE BIOBANK NSCMB FEB RAS?.....	402
Orlova T.Yu.	402
БИОКОЛЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ: ФОРМЫ СОХРАНЕНИЯ И НАПРАВЛЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ.....	403
Зиновьева Н.А.	403
ОПЫТ РАЗВИТИЯ КОЛЛЕКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР / EXPERIENCE IN THE DEVELOPMENT OF A COLLECTION OF CELL CULTURES.....	404
Воротеляк Е.А., Алпеева Е.В.	404
ИНФОРМАЦИОННАЯ ПЛАТФОРМА БИОБАНКОВ НА ОСНОВЕ РЕШЕНИЙ «БАРС ГРУПП»/ INFORMATION PLATFORM OF BIOBANKS BASED ON "BARS GROUP"'S SOLUTIONS.....	405
Ашенбреннер И. В.	405
ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА ПРОЕКТА «НОЕВ КОВЧЕГ»: ОБЪЯТЬ НЕОБЪЯТНОЕ МОЖНО!.....	406
Каменский П.А.	406
ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В РАЗВИТИИ МИКРОБНЫХ КОЛЛЕКЦИЙ.....	407
Василенко А.Н., Озерская С.М., Ступарь О.С., Евтушенко Л.И.	407
STATE AND DEVELOPMENT OF MICROBIAL COLLECTIONS IN INSTITUTIONS OF RUSSIAN FEDERATION MINISTRY OF SCIENCE AND HIGH EDUCATION.....	408
Pimenov N.	408
COLLECTION OF UNIQUE AND EXTREMOPHILIC MICROORGANISMS (UNIQEM) AND SURVIVAL OF MICROBES IN NATURAL AND CREATED BIOBANKS.....	409
Mulyukin A.	409
РЕСУРСНЫЙ ЦЕНТР «КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ» - ПЕРСПЕКТИВЫ КОМПЛЕКСНОГО ПОДХОДА В ФОРМИРОВАНИИ И ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОЛЛЕКЦИЙ ЖИВЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ.....	410
Чистякова Л.В., Волков К.В.	410
GENETIC BIODIVERSITY OF RHIZOBIAL STRAINS ISOLATED FROM ROOT NODULES OF THE RELICT LEGUMES AND DEPOSITED IN THE RUSSIAN COLLECTION OF AGRICULTURAL MICROORGANISMS (RCAM).....	411
Safronova V., Belimov A., Sazanova A., Chirak E., Kuznetsova I., Andronov E., Pinaev A., Tsyganova A., Seliverstova E., Kitaeva A., Tsyganov V., Tikhonovich I.	411
МАЛЕНЬКИЕ ОРГАНИЗМЫ ДЛЯ БОЛЬШИХ ВЫЗОВОВ В БИОТЕХНОЛОГИИ.....	412
Синеокий С.	412
СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ КОЛЛЕКЦИЯ АЛКАНОТРОФОВ: СОВРЕМЕННЫЙ СТАТУС, ХАРАКТЕРИСТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ.....	413
Ившина И.Б., Куюкина М.С., Криворучко А.В., Елькин А.А.	413

ОМИКСНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА БАЗЕ БИОКОЛЛЕКЦИИ ПАЦИЕНТОВ С АКУШЕРСКИМИ ПАТОЛОГИЯМИ .....	414
Глотов А.С.414	
ОМИКСНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОРЕСУРСОВ.....	415
Пельтек С.Е. *, Старостин К.В., Ершов Н., Ефимов В.М., Шляхтун В.Н., Мещерякова И. А., Банникова С. В., Розанов А. С., Брянская А.В., Демидов Е.А.415	
ГЕНОМНЫЕ ПРОЕКТЫ НА БАЗЕ БИОБАНКА НИИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ ТОМСКОГО НИМЦ .....	416
Харьков В.Н., Степанов В.А.416	
TWIN METHOD IN (EPI)GENOMICS, OMICS AND BIOMARKER RESEARCH.....	417
Odintsova V.V., Van Dongen J., Boomsma DI417	
РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНСОРЦИУМ ПО ПСИХИАТРИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКЕ: КРИТИЧЕСКАЯ РОЛЬ БИОБАНКИНГА ДЛЯ РАЗВИТИЯ ПОПУЛЯЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	418
Кибитов А.О.418	
СОЗДАНИЕ БИОБАНКА БИОМАТЕРИАЛА ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТОМ II ТИПА В РАМКАХ ПРОЕКТА ЭСТОНСКО-РОССИЙСКОГО ПРИГРАНИЧНОГО СОТРУДНИЧЕСТВА .....	419
Насыхова Ю. А., Серебрякова Е. А., Михайлова А. А., Глотов А. С.419	
БИОБАНКИ, КАК КЛЮЧЕВОЙ ИНСТРУМЕНТ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ .....	420
Апалько С.В., Сарана А.М., Макаренко С.В., Уразов С.П., Щербак С.Г.420	
НА ПУТИ К СОЗДАНИЮ НАЦИОНАЛЬНОГО БИОБАНКА РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН: ПРАВОВОЕ И ЭТИЧЕСКОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ.....	421
Исаева Р.Б., Кожамкулов У.А., Исабаева К.К., Дюйсенова Ж.С., Жабалин М.К., Абзалиева С.А., Алиакпарова А.К.421	
<b>МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ХЛЕБА БУДУЩЕГО: ГЕНОМИКА, ГЕНЕТИКА, СЕЛЕКЦИЯ» / INTERNATIONAL CONFERENCE ‘BREADS OF THE FUTURE: GENOMICS, GENETICS, BREEDING’ .....</b>	<b>422</b>
<b>Открытие и пленарная сессия конференции / Opening and Conference plenary session .....</b>	<b>422</b>
GLOBAL VISION FOR BREAD WHEAT RESEARCH .....	422
Langridge P.422	
ВКЛАД ГЕНЕТИКИ В «ЗЕЛЕННЫЕ ПРОРЫВЫ» В СЕЛЕКЦИИ .....	423
Беспалова Л.А.423	
<b>Сессия I. Изучение и использование генетических ресурсов / Session I. Evaluation and use of genetic resources.....</b>	<b>424</b>
PLANT GENOMIC RESOURCES: FROM CONSERVATION TO INNOVATION .....	424
Graner A.424	
NEW APPROACHES TO EVALUATION OF CEREALS GENETIC RESOURCES .....	425
Loskutov I.425	
SPATIAL AND TEMPORAL ADAPTATION OF A WILD EMMER WHEAT POPULATION UNDER CLIMATE CHANGE—A CASE STUDY FOR <i>IN SITU</i> CONSERVATION.....	426
Dahan-Meir T., Sela H., Melamed-Bessudo C., Avivi-Ragolsky N., A. Raz, M.Feldman, Y.Anikster, A.A. Levy426	
NEW INSIGHTS ON THE ADAPTATION OF OLD DURUM WHEAT RESULTING FROM ITS MIGRATION ACROSS THE MEDITERRANEAN BASIN .....	427
Royo C., Soriano J.M., Villegas D.427	
<b>Сессия II. Геномика / Session II. Genomics .....</b>	<b>428</b>

IN THE SPIRIT OF VAVILOV – PROVIDING THE GENOMIC CONTEXT OF GLOBAL DIVERSITY COLLECTIONS OF WHEAT AND BARLEY.....	428
Stein N.428	
DURUM WHEAT GENOME REVEALS THE SIGNATURE OF 10,000 YEARS OF SELECTION	429
Maccaferri M., N. S. Harris, S. O. Twardziok, R. K. Pasam, H.Gundlach, M.Spannagl, D. Ormanbekova, T. Lux, V.Prade, <i>et al.</i> 429	
<b>Сессия III. Потенциал урожайности и эффективное использование генетических ресурсов / Session III. Yield potential and efficient use of genetic resources .....</b>	<b>430</b>
MOVING NEW AND USEFUL GENETIC VARIATION FROM GENE BANKS TO BREEDING ..	430
Griffiths S.430	
SELECTION AND CHARACTERIZATION OF A WINTER WHEAT DIVERSITY PANEL.....	431
Le Gouis J., Mini A., Bouchet S., Paux E., Lafarge S., Derory J. , Balfourier F.431	
NON-INVASIVE PHENOTYPING REVEALS STRESS-ADAPTIVE AND CONSTITUTIVE BIOMASS QTL IN CEREALS .....	432
Neumann K., Grieco M., Zhao Y., Chu J., Dhanagond S., Reif J., Graner A.432	
ЧУЖЕРОДНЫЕ ИНТРОГРЕССИИ У МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ: РАСШИРЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭКОНОМИЧЕСКИ ВАЖНЫХ ПРИЗНАКОВ .....	433
Пшеничникова Т.А.433	
<b>Сессия IV. Улучшение устойчивости к факторам биотического и абиотического стресса / Session IV. Improving of resistance to biotic and abiotic stress .....</b>	<b>434</b>
BREEDING FOR RESISTANCE – CORNERSTONE FOR FUTURE CEREAL PRODUCTION .....	434
Ordon F.434	
MOLECULAR ANALYSIS OF FUNCTION AND DIVERSITY OF WHEAT DISEASE RESISTANCE IN THE AGE OF (PAN-)GENOMICS .....	435
Keller B., , Krattinger S. , Kolodziej M., Wicker T. , Sanchez-Martin J. 435	
THE TETRAPLOID WHEAT GERMPLASM COLLECTION (TGC) UNCOVERS VALUABLE DIVERSITY IN TETRAPLOID WHEAT.....	436
Maccaferri M., Ormanbekova D., K. Pasam R.K., Mastrangelo A.M., Mazzucotelli E., Kilian B., Ozkan H., Pecchioni N., Pozniak C, Xu S., Hayden M., Cattivelli C., Tuberosa R.436	
ЭФФЕКТИВНЫЕ КОМБИНАЦИИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ С ДЛИТЕЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К <i>Pyrenophora teres f. teres</i> .....	437
Афанасенко О.С.437	
POSITIONAL CLONING OF THE STRIPE RUST RESISTANCE GENE, YR15, DERIVED FROM WILD EMMER WHEAT.....	438
Fahima T., Klymiuk V., Yaniv E., Huang L., Dina Raats D., Andrii Fatiukha A.438	
СЕЛЕКЦИЯ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ В РОССИИ .....	439
Гулятьева Е.И.439	
<b>Краткие выступления молодых ученых / Elevator Pitch for young scientists .....</b>	<b>440</b>
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ОБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ ИЗ ЭФИОПИИ ПО АДАПТИВНО ВАЖНЫМ ПРИЗНАКАМ.....	440
Абдуллаев Р.А., Лебедева Т.В., Алпатьева Н.В., Чумаков М.А., Косарева И.А., Радченко Е.Е.440	
THE STUDY OF FUNGAL INFECTION AND MYCOTOXINS IN GRAIN OF WILD AVENA SPECIES FROM VIR COLLECTION .....	441
Gavrilova O.P., Gagkaeva T.Yu., Orina A.S., Blinova E.V., Loskutov I.G.441	
ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ЛОКУСА <i>Vlp</i> , КОНТРОЛИРУЮЩЕГО ФОРМИРОВАНИЕ ПРИЗНАКА ЧЁРНОЙ ОКРАСКИ КОЛОСА ЯЧМЕНЯ ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) .....	442
Глаголева А.Ю., Шмаков Н.А., Мурсалимов С.Р., Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю.442	
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА <i>Lr19</i> В ОБРАЗЦАХ КОЛЛЕКЦИИ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ.....	443
Груздев И.В. , Пырсигов А.С. , Гарибян Ц.С. , Коленков М.А.443	

ИЗУЧЕНИЕ ОРГАНИЗАЦИИ ПРОФАЗНОГО ЯДРА У ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ (ABDR, 4X=28) С РАЗЛИЧНЫМ ПАТТЕРНОМ МЕЙОТИЧЕСКОГО ДЕЛЕНИЯ.....	444
Логинава Д.Б., Силкова О.Г.444	
ИЗУЧЕНИЕ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ОЗИМОМУ СОРТУ БЕЗОСТАЯ 1 С КОМБИНАЦИЕЙ ДОМИНАНТНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ЛОКУСОВ VRN-1.....	445
Чуманова Е.В. , Ефремова Т.Т., Кручинина Ю.В.445	
<b>Сессия V. Качество и безопасность зерна всех направлений использования / Session V. High quality and safe cereals for food, feed and processing use.....</b>	<b>446</b>
SCREENING OF GRAIN CROPS IN THE SEARCH AND BREEDING OF RAW MATERIALS FOR FUNCTIONAL NUTRITION .....	446
Abugalieva A.I., Savin T.V.446	
СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА ПРИМЕРЕ ГЕНОВ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ .....	447
Новосельская-Драгович А.Ю.447	
STUDYING OF THE MOLECULAR-GENETIC CONTROL OF POLYPHENOLIC PIGMENTATION IN WHEAT AND BARLEY AS A BASIS FOR BREEDING ANTIOXIDANT-RICH CEREALS .....	448
Shoeva O.Yu., Gordeeva E.I., Kukoeva T.V., Strygina K.V., Vikhorev A.V., Glagoleva A.Yu., Shmakov N.A., Levanova N.M., Mursalimov S.R., Yudina R.S., Börner A., Khlestkina E.K.448	
<b>Сессия VI. Молекулярная и геномная селекция зерновых культур / Session VI. Molecular Breeding and Genomic selection of small grains .....</b>	<b>449</b>
PLANT BREEDING IN THE 21 <sup>ST</sup> CENTURY: MOLECULAR BREEDING AND HIGH THROUGHPUT PHENOTYPING.....	449
Sorrells M.E.449	
GENOMICS-BASED BREEDING OF HYBRID RYE (SECALE CEREALE) .....	450
Miedaner T., Wilde, P. , Korzun, V.450	
ГЕНОМИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ СЕЛЕКЦИЯ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР .....	451
Корзун В.Н.451	
<b>Сессия VII. Будущие вызовы и инновации / Session VII. Future challenges and innovations...452</b>	
THE GENETIC ARCHITECTURE OF GRAIN-YIELD HETEROSIS IN WHEAT.....	452
Reif J.C.452	
SPEED BREEDING: A POWERFUL TOOL TO ACCELERATE WHEAT RESEARCH AND BREEDING .....	453
Hickey L.T., Watson A., Ghosh S., Hayes B., Voss-Fels K., Godwin I.D., Wulff B.B.H.453	
OPPORTUNITIES FROM CROP GENOME EDITING .....	454
Lawrenson T., Hayta S., Smedley M., Hundley P., Harwood W.454	
<b>Сессия VIII. Крупные проекты сотрудничества на национальном и международном уровнях / Session VIII. National and International large collaborative projects .....</b>	<b>455</b>
BREEDWHEAT: BREEDING FOR SUSTAINABLE WHEAT VARIETIES, AN INTEGRATED PROJECT FROM GENOMICS TO SELECTION.....	455
Paux E.455	
MARKER-TRAIT ASSOCIATIONS IN SPRING WHEAT GENETIC PANELS STUDIED IN KAZAKHSTAN .....	456
Turuspekov Y., Amalova A., Genievskaya Y., Abdikhalyk A., Babkenov A., Rsaliyev A., Abugalieva S.456	
FOOTPRINTS OF CHINESE WHEAT GENOME HIGHLIGHTS THE BASIS FOR SUCCESSFUL VARIETIES.....	457
Zhang X., Wang Z., Hao C., Zhao J., Li T., Hou J., Liu H. X.457	
TRANSLATIONAL GENOMICS FOR CROP IMPROVEMENT: EXPERIENCES AT ICRISAT ....	458
Varshney R. K.458	

<b>ТЕЗИСЫ ПОСТЕРНЫХ ДОКЛАДОВ / ABSTRACTS OF POSTER PRESENTATIONS</b> .....	459
<b>Симпозиум I: Репликация, транскрипция, трансляция / Symposium I: Replication, Transcription, Translation</b> .....	459
ВЛИЯНИЕ CLOSED-LOOP СТРУКТУРЫ мРНК НА ТЕРМИНАЦИЮ ТРАНСЛЯЦИИ ЭУКАРИОТ.....	459
Бизязев Н.С. , Шувалов А.В. , Егорова Т.В. , Алкалаева Е.З.	459
АКТИВНОСТЬ PRIMPOL ЧЕЛОВЕКА НА ДНК-СУБСТРАТАХ, СОДЕРЖАЩИХ БРЕШИ....	460
Болдинова Е.О., Белоусова Е.А., Мальцева Е.О., Ходырева С.Н., Лаврик О.И., Макарова А.В.	460
ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ДНК-АПТАМЕРОВ К СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЕ ЧЕЛОВЕКА POL η.....	461
К.А. Бондаренко, А.В. Макарова.	461
ВЛИЯНИЕ ЯДЕРНОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ИЗОФОРМ POLDP2 НА АКТИВНОСТЬ PRIMPOL.....	462
Гагаринская Д.И., Болдинова Е.О., Макарова А.В.	462
МИНИГЕН TURBOGFP ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССИНГА ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ КОРОТКИХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ.....	463
Даянова Л.К. ,Патрушев Л.И.	463
РОЛЬ ФАКТОРА ИНИЦИАЦИИ eIF3j В ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ.....	464
Егорова Т.В., Зотова М.И., Кущенко А.С., Соколова Е.Е., Шувалов А.В., Алкалаева Е.З.	464
УЧАСТИЕ ИЗОФОРМ ФАКТОРА ERF1 ЧЕЛОВЕКА В ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ.....	465
Иванова С.Д., Шувалов А.В., Егорова Т.В., Шувалова Е.Ю., Соколова Е.Е., Алкалаева Е.З.	465
ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНО-ПАТОГЕННЫХ ВИДОВ КАМПИЛОБАКТЕРИЙ.....	466
Котельникова А. А., Баннов В. А.,	466
НОВЫЕ ФАКТОРЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТ КОНТЕКСТА СТОП КОДОНА НА ТЕРМИНАЦИЮ ТРАНСЛЯЦИИ У ЭУКАРИОТ.....	467
Соколова Е.Е. , Шувалов А.В., Егорова Т.В., Горопыгин И.Ю., Алкалаева Е.З.	467
АКТИВНОСТЬ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ ЧЕЛОВЕКА НА МЕТИЛИРОВАННЫХ ДНК-МАТРИЦАХ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ.....	468
Шилкин Е.С., Полтораченко В.А, Жарков Д.О., Макарова А. В.	468
ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИЕ С RAVR БЕЛКИ, RAP1 И RAP2, УЧАСТВУЮТ В ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ.....	469
Иванов А.В., Шувалова Е.Ю., Егорова Т.В., Теренин И.М., Алкалаева Е.З.	469
ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ДОМЕСТИЦИРОВАННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В СТРЕССОВОМ ОТВЕТЕ У <i>Drosophila melanogaster</i> .....	470
Нефедова Л.Н., Махновский П.А., Балакирева Е.И., Чередеева В.Д., Ким А.И.	470
ШИРОКОМАСШТАБНЫЙ ПОИСК НУКЛЕОТИДНЫХ МОТИВОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ПРОЦЕСС ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ.....	471
Пиндюрин А.В., Болдырева Л.В., Иванкин А.В., Летягина А.Е. Омелина Е.С., Яринич Л.А., Лебедев М.О., Кожевникова Е.Н.	471
ВЗАИМНОЕ УЧАСТИЕ БЕЛКОВ DDX19 И GLE1 ЧЕЛОВЕКА В ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ.....	472
Шувалов А.В., Егорова Т.В. , Соколова Е.Е., Шувалова Е.Ю., Алкалаева Е.З.	472
<b>Симпозиум II: Экологическая генетика и генетическая токсикология / Symposium II: Ecological Genetics and Genetic Toxicology</b> .....	473

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> , ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В АЛЬФА-ТЕСТЕ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ШИРОКОГО СПЕКТРА ПЕРВИЧНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ И НАСЛЕДУЕМЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА.....	473
Афанасова Д.В., Жук А.С., Степченкова Е.И., Инге-Вечтомов С.Г.473	
МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ МАРКЕРЫ ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА <i>BOEREMIA EXIGUA</i> ....	474
Бемова В.Д., Сокорнова С.В., Гасич Е.Л., Матвеева Т.В.474	
ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ ФУРАНОНОВ.....	475
Глазкова Р.М., Костенко В.В.475	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ.....	476
Денисова Е.Р., Байер М.А., Куприянова Е.В.476	
ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА КАДМИЯ НА УРОВЕНЬ ПОЛНОГЕНОМНОГО МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК И СТЕПЕНЬ КОМПАКТИЗАЦИИ ХРОМАТИНА В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА .....	477
Дергачева Н.И., Сучкова И.О., Сасина Л.К., Баранова Т.В., Нониашвили Е.М., Софронов Г.А., Паткин Е.Л.477	
РОЛЬ ГЕНОВ ИНСУЛИНОВОГО СИГНАЛЬНОГО КАСКАДА <i>DILP6</i> И <i>DFOXO</i> В РЕГУЛЯЦИИ УГЛЕВОДНОГО И ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> В УСЛОВИЯХ ТЕПЛООВОГО СТРЕССА .....	478
Еремина М.А., Карпова Е.К., Грунтенко Н.Е.478	
SUSTAINABLE DEVELOPMENT OF CASPEAN SEA ECOSYSTEM'S, SOCIETY AND HUMAN BEING.....	479
Kozhahmetova A.N., Bigalyev A.B., Shalabaeva K.Z., Adilova L.M., Kulimbetov A.K., Shymshikov V.E.479	
ПЕРСПЕКТИВЫ МЕТОДА ДНК-КОМЕТ В ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ.....	480
Курчатова М. Н., Дурнова Н. А.480	
ИЗУЧЕНИЕ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ S2 ДРОЗОФИЛЫ.....	481
Лубяга Ю.А., Яринич Л.А., Дроздова П.Б., Т. Люкенбах, Тимофеев М.А.481	
ОСОБЕННОСТИ ИНВЕРСИОННОГО ПОЛИМОРФИЗМА И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ФИТОФИЛЬНОГО <i>ENDOCHIRONOMUS TENDENS</i> (FABRICIUS, 1775)(DIPTERA, CHIRONOMIDAE).....	482
Оглезнева А.А., Дурнова Н.А.482	
БИОДОСТУПНЫЕ ИСТОЧНИКИ АЗОТА КАК ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР, РЕГУЛИРУЮЩИЙ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ТРАНСПОРТЕРОВ АЗОТА <i>DUR3</i> И <i>NRT2.1</i> У ДИНОФЛАГЕЛЛЯТ <i>PROROCENTRUM MINIMUM</i> .....	483
Печковская С.А., Матанцева О.В., Филатова Н.А.483	
ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ЭКСТРАКТА <i>Prunella grandiflora L.</i> ОТНОСИТЕЛЬНО ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭТОПОЗИДА НА <i>Drosophila melanogaster</i> .....	484
Постовалова А.С., Антосюк О.Н., Болотник Е.В.484	
СОДЕРЖАНИЕ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В АНТРОПОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВАХ.....	485
Хмелевцова Л.Е., Сазыкин И.С., Сазыкина М.А.485	
МИКРОБИОМ ПОЧВ ПРИРОДНЫХ И АНТРОПОГЕННЫХ ЭКОСИСТЕМ КРАЙНЕГО СЕВЕРА: МЕТАГЕНОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ИНИЦИАЛЬНОГО ПЕДОГЕНЕЗА.....	486
Абакумов Е., Першина Е., Иванова Е., Кимеклис А., Гладков Г., Зверев А., Андронов Е.486	
РОЛЬ ЧАСОВЫХ ГЕНОВ В СТАРЕНИИ И РАЗВИТИИ АССОЦИИРОВАННОЙ С ВОЗРАСТОМ ПАТОЛОГИИ .....	487
Анисимов В.Н.487	

НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА В НОРМАЛЬНЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА, СВЯЗАННЫЕ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И НЕКОДИРУЮЩИХ РНК.....	488
Засухина Г.Д., Михайлов В.Ф.488	
ОЦЕНКА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОГО КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА .....	489
Ильинских Н.Н., Ильинских Е.Н.489	
СТУДЕНТЫ МЕЖДУ ЭКЗАМЕНАМИ – СТРЕСС И НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА. АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ АНАЛИЗ ПРИЧИН ЭФФЕКТОВ .....	490
Ингель Ф.И. , Юрченко В.В., Кривцова Е.К., Макарова А.С.490	
ВЛИЯНИЕ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА <i>IRT1</i> В КОРНЯХ И ЛИСТЬЯХ ЯЧМЕНЯ ПРИ ОПТИМАЛЬНОМ И ИЗБЫТОЧНОМ СОДЕРЖАНИИ ЦИНКА В КОРНЕОБИТАЕМОЙ СРЕДЕ .....	491
Казнина Н.М. , Репкина Н.С., Батова Ю.В., Титов А.Ф.491	
РОЛЬ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ.....	492
Кокшарова О.А.492	
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД Г. АЛМАТЫ .....	493
Колумбаева С.Ж., Ловинская А.В., Илиясова А.И.493	
ГЕН-ГЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ХРОМОСОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ У РАБОЧИХ УГОЛЬНЫХ ШАХТ .....	494
Минина В.И., Савченко Я.А., Баканова М.Л., Рыжкова А.В., Титов Р.А., Соболева О.А., Тимофеева А.А., Астафьева Е.А., Глушков А.Н.494	
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫМ ХЕЛАТНЫМ МИКРОУДОБРЕНИЕМ МАРКИ ЖУСС-2.....	495
Пахомова В.М., Даминова А.И., Гайсин И.А.495	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЛИЯНИЯ ПРИРОДНОГО СТРЕССА (УСЛОВИЯ ВЫСОКОГОРЬЯ) НА РАСТЕНИЯ.....	496
Реутова Н.В., Малаева М.Б., Реутова Т.В., Дреева Ф.Р., Мисирова А.Х.496	
ПРИМЕНЕНИЕ БАТАРЕИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЦЕЛЬНОКЛЕТОЧНЫХ LUX-БИОСЕНСОРОВ В ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ .....	497
Сазыкина М.А. , Сазыкин И.С., Кудеевская Е.М., Журавлева М.В., Карчава Ш.К., Хаммами М.И.497	
К ВОПРОСУ О РОЛИ АНТРОПОГЕННОЙ ИНСУЛЯРИЗАЦИИ В ЭВОЛЮЦИИ СОВРЕМЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ НАЗЕМНЫХ МОЛЛЮСКОВ .....	498
Снегин Э.А., Снегина Е.А.498	
ГЕНЕТИКА ПИГМЕНТОВ ФОТОСИНТЕЗА: ХЛОРОФИЛЛОВ И КАРОТИНОИДОВ. ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	499
Чекунова Е.М.499	
МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАРИОТИПА <i>GMELIŃOIDES FASCIATUS</i> В ИЗУЧЕНИИ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ И МОНИТОРИНГЕ ВОДНОЙ СРЕДЫ .....	500
Барабанова Л.В. , Михайлова Е.И., Галкина С.А.500	
ВЛИЯНИЕ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ <i>CU/ZNSOD1</i> , <i>CAT2</i> И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ ЯЧМЕНЯ ПРИ ОПТИМАЛЬНОМ И ВЫСОКОМ СОДЕРЖАНИИ ЦИНКА В КОРНЕОБИТАЕМОЙ СРЕДЕ ..	501
Батова Ю.В. , Репкина Н.С., Казнина Н.М., Титов А.Ф.501	
ОЦЕНКА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛЮДЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ БЫВШЕГО ХРАНЕНИЯ ЗАПАСОВ УСТАРЕВШИХ ПЕСТИЦИДОВ.....	502
Сейсенбаева А., Муратова Ф., Чередниченко О., Байгушикова Г., Сапаргали О., Амиргалиева А., Джансугурова Л., Бекманов Б. , Хусаинова Э.502	

ЭКОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ТЕСТ-СИСТЕМАХ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> ДЛЯ РАДОНООПАСНЫХ ТЕРРИТОРИЙ.....	503
Бияшева З.М., Глеубергенова М.Ж., Зарипова Ю.А., Юшков А.В.503	
IMPROVING THE ALPHA-TEST TO DETECT PRIMARY LESIONS IN ALIVE YEAST <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> .....	504
Zhuk A., Stepchenkova E., Inge-Vechtomov S.504	
ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАДИАЦИИ НА ПОПУЛЯЦИИ ЧЕЛОВЕКА.....	505
Ижевский П.В.505	
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ГЛИФОСАТА И ГЛИФОСАТСОДЕРЖАЩЕГО ГЕРБИЦИДА РАУНДАП .....	506
Илюшина Н.А., Аверьянова Н.С., Егорова О.В., Масальцев Г.В., Ревазова Ю.А.506	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТОКСИНОВ СИНЕ-ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ .....	507
Ковалева М.И., Сиделев С.И.507	
ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННОГО ЭФФЕКТА ОБРАЗЦОВ ВОДЫ И ПОЧВЫ, СОБРАННЫХ В МЕСТАХ ХРАНЕНИЯ УСТАРЕВШИХ, ЗАПРЕЩЕННЫХ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПЕСТИЦИДОВ НА РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ.....	508
Мить Н.В. , Хамдиева О.Х., Мусаева А.С., Чередниченко О.Г., Амиргалиева А.С., Бегманова М.О., Толбаева А.Д., Койшекенова Г.А., Джансугурова Л.Б., Бекманов Б.О.508	
НАРУШЕНИЯ СНА И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ЗАПОЛЯРЬЯ .....	509
Петрашова Д.А., Пожарская В.В., Коломейчук С.Н., Михайлов Р.Е., Мартынова А.А.509	
МИКРОЯДРА В КЛЕТКАХ АПИКАЛЬНОЙ КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЫ ПРОРОСТКОВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО ( <i>QUERCUS ROBUR L.</i> ).....	510
Попова А.А., Попова В.Т. 510	
ГЕНОМНЫЕ ОСТРОВА БАКТЕРИЙ: ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ И СТРУКТУРНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ.....	511
Румянцева М.Л. , Черкасова М.Е., Мунтян В.С.511	
ЧАСТОТА ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ И ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ У ДЕТЕЙ В Г. ЧЕЛЯБИНСКЕ .....	512
Рязанова Л.А., Алфёрова И.П.512	
ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ, КАК ЖЕСТКИЙ МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИИ К РАЗНООБРАЗИЮ УГЛЕВОДОРОДНЫХ СУБСТРАТОВ.....	513
Сазыкин И.С., Хмелевцова Л.Е. , Макаренко М.С., Селиверстова Е.Ю. , Сазыкина М.А.513	
ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ <i>ROLC</i> НА СОДЕРЖАНИЕ УГЛЕВОДОВ В РАСЕНИЯХ <i>NICOTIANA TABACUM</i> .....	514
Сокорнова С.В., Матвеева Т.В.514	
МЕЖГЕНОМНЫЙ КОНФЛИКТ ПРИ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ ЛЕЩА ( <i>ABRAMIS BRAMA L.</i> ) И ПЛОТВЫ ( <i>RUTILUS RUTILUS L.</i> ) .....	515
Столбунова В.В., Павлова В.В., Кодухова Ю.В.515	
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ИНФИЦИРОВАНИЯ КУЛЬТУР КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА БАКТЕРИЯМИ, ПОЛУЧЕННЫМИ ИЗ ПРОБ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ГРУНТОВ СИБИРИ.....	516
Субботин А.М.516	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАРКОДИНГА И МЕТАБАРКОДИНГА ДНК ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ХОЗЯЙСТВЕННО ЗНАЧИМЫХ НАСЕКОМЫХ И КЛЕЩЕЙ .....	517
Сыромятников М.Ю., Кокина А.В., Попов В.Н.517	
МОНИТОРИНГ ПРОДУЦЕНТОВ ФИКОТОКСИНОВ В ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЯХ РФ: МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД.....	518
Орлова Т.Ю. Ефимова К. В.518	
РАЗРАБОТКА НОВОГО МЕТОДА МОНИТОРИНГА НЕСТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА В ОТВЕТ НА ХИМИЧЕСКИЙ СТРЕСС .....	519
Лавренев А.Р., Румак В.С., Левенкова Е.С., Попов В.С., Малыгин В.М., Умнова Н.В.519	

СВЕРХЭКСПРЕССИЯ ИЗОФОРМЫ В ГЕНА DGR-1 ОБЕСПЕЧИВАЕТ ВЫСОКИЙ УРОВЕНЬ ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ САМЦОВ ДРОЗОФИЛЫ ПРИ СТАРЕНИИ И ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ.....	520
Федотов С.А., Беседина Н.Г., Брагина Ю.В., Даниленкова Л.В., Камышева Е.А., Камышев Н.Г.	
ВЫЯВЛЕНИЕ ГРУПП РИСКА ФОРМИРОВАНИЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН.....	521
Целоусова О.С., Овсянникова Л. Б., Гималетдинов Э.Г., Викторова Т.В.	
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС БИОИНДИКАТОРОВ, ОБИТАЮЩИХ ВБЛИЗИ МЕСТ ХРАНЕНИЯ ЗАПАСОВ УСТАРЕВШИХ ПЕСТИЦИДОВ.....	522
Чередниченко О.Г., Магда И.Н., Пилюгина А.Л., Нуралиев С.К., Байгушикова Г.М., Бекманов Б.О.	
ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ДОЗ РАДИАЦИИ НА РЕГУЛИРОВАНИЕ P53- и NFκB-СИСТЕМ КЛЕТОЧНОГО ГОМЕОСТАЗА НЕКОДИРУЮЩИМИ РНК В ЛИМФОЦИТАХ И Т-ЛИМФОБЛАСТОИДНЫХ КЛЕТАХ ЧЕЛОВЕКА.....	523
Шуленина Л.В., Раева Н.Ф., Салеева Д.В., Незнанова М.В., Михайлов В.Ф., Засухина Г.Д.	
<b>Симпозиумы III, XVIII: Биоинформатика и системная биология / Symposia III, XVIII: Bioinformatics and Systems Biology.....</b>	<b>524</b>
БАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГИБРИДНЫХ ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ С ВКЛЮЧЕННЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА (I) МЕДИ.....	524
Белоусова М.Е., Евдокимова О.Л., Нижников А.А.	
МОДЕЛИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ В КОНТРОЛЬНЫХ И СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ.....	525
Бобровских А. В., Колодкин А. Н., Дорошков А.В.	
ПОИСК БИОМАРКЕРОВ ПОВЫШЕННОГО АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА РАСТЕНИЙ ГУАРА ( <i>Cyamopsis tetragonoloba</i> (L.) Taub.) НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛОМНОГО АНАЛИЗА....	526
Теплякова С.Б., Шаварда А.Л., Потокина Е.К.	
ПРИМЕНЕНИЕ МНОЖЕСТВЕННЫХ ФОРМ ФЕРМЕНТОВ СОИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ.....	527
Иваченко Л.Е., Лаврентьева С.И., Синеговская В.Т.	
ПОИСК НОВЫХ ГЕНОВ В «СКРЫТОЙ» ЧАСТИ ТРАНСКРИПТОМОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ.....	528
Генаев М.А., Шмаков Н.А., Мустафин З.С., А.М. Мухин, Д.К. Константинов, А.В. Дорошков, С.А. Лашин, Афонников Д.А.	
РОЛЬ РНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА Dm NXF1 (NUCLEAR EXPORT FACTOR 1) В МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ У <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> .....	529
Голубкова Е.В., Гинанова В.Р., Якимова А.О., Кливер С.Ф., Пасынков А.И., Мамон Л.А.	
THE WHEAT LEAF EPIDERMAL PATTERN AS A MODEL FOR STUDYING THE EFFECT OF STRESS CONDITIONS ON MORPHOGENESIS.....	530
Zubairova U.S., Doroshkov A.V.	
ИНВЕНТАРИЗАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВЕЗИКУЛ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ КОНТЕЙНЕРОВ ДЛЯ ВОСПРОИЗВОДСТВА ИСКУССТВЕННОГО ГЕНОМА.....	531
Матюшкина Д.С., Бутенко И.О., Алехина О.М., Говорун В.М.	
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ ДНК-МАТРИЦ, СОДЕРЖАЩИХ ИСКУССТВЕННЫЕ НУКЛЕОТИДЫ, В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ T7 РНК ПОЛИМЕРАЗЫ.....	532
Мукба С.А., Власов П.К., Алкалаева Е.З.	
ТРАНСКРИПТЫ ГЕНА <i>NXF1</i> С КАССЕТНЫМ ИНТРОНОМ И БЕЗ НЕГО В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ У РАЗНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ.....	533
Бондарук Д.Д., Е. В. Голубкова, Л. А., Мамон, В.Р. Гинанова, С. Ф. Кливер.	
FOLDGO - НОВЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ОБОГАЩЕНИЯ С УЧЕТОМ СТЕПЕНИ ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ.....	534
Вибе Д.С., Омельянчук Н.А., Мухин А.М. Лашин С.А., Миронова В.В.	

РАЗРАБОТКА ПОДХОДА ДЛЯ АНАЛИЗА ПОЛНО-ТРАНСКРИПТОМНЫХ ДАННЫХ.....	535
Власов И.Н., Шадрина М.И., Сломинский П.А.535	
АЛГОРИТМ ИДЕНТИФИКАЦИИ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ НЕОХАРАКТЕРИЗОВАННЫХ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМАХ .....	536
Вычик П.В., Николайчик Е.А.536	
ВЗАИМОСВЯЗЬ КОПИЙНОСТИ ГЕНОВ И ВИРУЛЕНТНОСТИ ШТАММОВ <i>E. COLI</i> .....	537
Гаранина И.А., Максюттов Н.Ф., Букато О.Н., Орехов Д.И. 537	
ТАНДЕМНЫЕ ПОВТОРЫ В ГЕНОМЕ КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА .....	538
Иванова Н.Г., Картавецва И.В., Подгорная О.И., Остромышенский Д.И. 538	
АНАЛИЗ ЭВОЛЮЦИИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ГЕЛЬМИНТОВ .....	539
Константинов Д.К., Дорошков А.В.539	
SOFTWARE TOOL FOR ANALYSIS OF POSSIBLE ALIGNER ARTEFACTS IN SEQUENCING .....	540
Dergilev A.I., Naumenko F.M., Luzin A.N., Abnizova I.I., Orlov Y.L.540	
ОЦЕНКА ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ШТАММОВ <i>E. COLI</i> МЕТОДАМИ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ.....	541
Гаранина И.А., Максюттов Н.Ф., Букато О.Н., Орехов Д.И. 541	
ТРАНСКРИПЦИЯ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ ХМЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО ( <i>HUMULUS LUPULUS</i> ).....	542
Старикова Е.В., Дивашук М.Г. 542	
ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ IN-SITU ПО ГЕНАМ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ (ГКГС) ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ПРОЕКТА «РОССИЙСКИЕ ГЕНОМЫ» И ДЛЯ ПРОЕКТА «ВАКЕ-OFF» .....	543
Шиманский В.С., Жернакова Д., Стефан Джеймс О'Брайен543	
TEXT COMPLEXITY OF GENOME SITES CONTAINING SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS .....	544
Orlov Y.L., Galieva A.G., Luzin A.N., Zhilitsky V.E., Dergilev A.I.544	
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ СТРЕСС-АССОЦИИРОВАННЫЕ БЕЛКИ С ДОМЕНАМИ ЦИНКОВЫХ ПАЛЬЦЕВ A20/AN1, В ГЕНОМЕ ЯБЛОНИ <i>in silico</i> .....	545
Кузмицкая П.В., Урбанович О.Ю545	
DOES THE DEPTH MATTER? COMPARATIVE TRANSCRIPTOME STUDY OF COMMON EUROPEAN SUBTIDAL AND INTERTIDAL BIVALVES .....	546
Bondareva O., Genelt-Yanovskiy E., Abramson N.546	
A COMPUTER PROGRAM FOR CONSTRUCTION OF REGRESSION FUNCTION IN AGROCLIMATIC MODELS.....	547
KozlovK., Nuzhdin S., Samsonova M.547	
NEXT GENERATION WHOLE GENOME SEQUENCING OF <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> STRAINS OF THE PETERHOF GENETIC COLLECTION.....	548
Matveenko A.G., Drozdova P.B., Barbitoff Y.A., Moskalenko S.E., Tarasov O.V., Polev D.E., Beliavskaia A.V., Predeus A.V., Zhouravleva G.A.548	
АННОТИРОВАНИЕ ГЕНОМОВ ПЛАНКТОМИЦЕТОВ: ГИГАНТСКИЕ ГЕНОМЫ ОБЕСПЕЧИВАЮТ ОГРОМНЫЙ ГЛИКОЛИТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ.....	549
Наумов Д.Г.549	
TANDEM REPEATS IN MAMMALIAN GENOMES .....	550
Ostromyshenskii D.I.Podgornaya O.I550	
MOLECULAR CHARACTERIZATION OF CLINICAL <i>LEISHMANIA MAJOR</i> ISOLATES HARBORING <i>ITS1</i> HOMOLOGY WITH THE ONE IN <i>CRITHIDA</i> SPP.....	551
Maybodi M. A., Eslami G., Tohidfar M., Bafghi A. F., Hosseini S. S., Ahmadian S., ElloumiM. 551	
PROTEIN FAMILY RECONSTRUCTION BASED ON LARGE PROKARYOTIC SEQUENCE DATASETS.....	552
Brückner J., Roettger M, Martin W.F552	

TAKE YOUR PICK: HOW PLANTS FIGHT CLIMATE CHANGE BY HYBRIDIZATION .....	553
Thomas A., Gruenheit N., Lockhart P., Martin W. F.553	
CHARTING THE GENE SET OF THE LAST UNIVERSAL COMMON ANCESTOR .....	554
Weiss M. C. , Martin W.F.554	
COUNT DOES NOT RECOVER MAJOR EVENTS OF GENE FLUX IN REAL BIOLOGICAL DATA.....	555
Kapust N., Nelson-Sathi S., Schönfeld B. , Hazkani-Covo E., Bryant D. , Lockhart P.J. , Röttger M.Xavier , J.C. , Martin W. F. 555	
DIVERSITY AND PROTEIN EVOLUTION OF 79 SPECIES PANGENOMES DERIVED FROM A MULTI-SPECIES CLUSTERING.....	556
Nagies F. S. P., Grünheit N., Nelson-Sathi S., Martin W. F.556	
IDENTIFICATION OF LATERAL GENE TRANSFERS AMONG PROKARYOTIC PROTEIN FAMILIES .....	557
Wimmer J.L.E., Knopp M., Martin W.F.557	
АНАЛИЗ ИНФОРМАТИВНОСТИ <i>in silico</i> ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ ПРИ ОЦЕНКЕ КЛИНИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МИССЕНС-ВАРИАНТОВ ГЕНОВ КОННЕКСИНОВ <i>GJB2</i> (Сх26), <i>GJB6</i> (Сх30) И <i>GJB3</i> (Сх31) .....	558
Пшеникова В.Г., Барашков Н.А., Романов Г.П., Соловьев А.В., Готовцев Н.Н., Никанорова А.А., Терютин Ф.М., Находкин С.С., Сазонов Н.Н., Хуснутдинова Э.К., Посух О.Л., Федорова С.А.558	
<b>Симпозиум IV: Генетика человека / Symposium IV: Human Genetics</b> .....	559
СЛУЧАЙ ДИАГНОСТИКИ У ОДНОГО ПАЦИЕНТА ДВУХ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ – РАБДОМИОЛИЗА И ПОЯСНО-КОНЕЧНОСТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ДИСТРОФИИ 2А ТИПА .....	559
Акимова И.А., Боровиков А.О., Дадали Е.Л.559	
ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА <i>GSTP1</i> В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕЭКЛАМПСИИ У ПРЕДСТАВИТЕЛЬНИЦ РОСТОВСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ .....	560
Бордаева О.Ю.560	
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНИРОВАННОСТЬ УСПЕШНОСТИ ОСВОЕНИЯ ЭЛЕКТРОМИОГРАФИЧЕСКОГО ИНТЕРФЕЙСА.....	562
Виткалова И.Ю., Гуреев А.П., Туровский Я.А., Попов В.Н.562	
EXPRESS TEST FOR PREECLAMPSIA DIAGNOSTIC .....	563
Gerasimova E., Kulichikhin K. Yu., Fedotov S.A., Rubel A.A.,Vashukova E.S., Pakin V.S., Glotov A.C., Chernoff Yu.O.563	
ПОВЫШЕННАЯ ЭКСПРЕССИЯ МРНК ИЗОФОРМ ТРАНСКРИПТОВ II ЭКЗОНА ГЕНА <i>HTR2A</i> – БИОМАРКЕР РАЗВИТИЯ РАССТРОЙСТВ ШИЗОФРЕНИЧЕСКОГО СПЕКТРА.....	564
Грунина М.Н., Заботина А.М., Белинская М.Н., Журавлев А.С., Насырова Р.Ф., Тараскина А.Е.564	
РОЛЬ ГЕНОВ АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ВАРИАЦИЯХ УРОВНЯ ДЕПРЕССИВНОСТИ .....	566
Давыдова Ю.Д., Казанцева А.В., Еникеева Р.Ф., Малых С.Б., Хуснутдинова Э.К.566	
ВАРИАНТЫ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ <i>СУР1В1</i> И <i>PITX2</i> У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ И ПЕРВИЧНОЙ ВРОЖДЕННОЙ ГЛАУКОМОЙ.....	567
Еникеева Р.Р., Лобов С.Л., Загидуллина А.Ш., Джемилева Л.У., Хуснутдинова Э.К.567	
РОЛЬ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА <i>RS2234911</i> ГЕНА, АССОЦИИРОВАННОГО С АКТИВНОСТЬЮ РЕГУЛЯЦИИ ЦИТОСКЕЛЕТА ( <i>ARC</i> ), В ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ВАРИАЦИИ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ТРЕВОЖНОСТИ.....	568
Еникеева Р.Ф., Казанцева А.В., Давыдова Ю.Д., Хуснутдинова Э.К.568	
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РЕГИОНОВ ВЫСОКОЙ ГОМОЗИГОТНОСТИ В ГЕНОМАХ КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ .....	569
Колесников Н. А., Харьков В. Н., Раджабов О. М., Степанов В. А.569	

- ВЛИЯНИЕ ДИСФУНКЦИИ ЛИЗОСОМ НА ПУЛ ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ БОЛЕЗНИ ГОШЕ** .....570  
Кулабухова Д.Г., Гараева Л.А., Сенкевич К.А., Нарыжный С.Б., Копылов А., Зорина Е., Верлов Н.А., Варфоломеева Е.Ю., Волницкий А.В., Ланда С.Б., Штам Т.А., Емельянов А.К., Шварцман А.Л., Пчелина С.Н.570
- СТЕПЕНЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ИНТРОНА 1 ГЕНА *SNCA* В CD45+ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**.....571  
Лавринова А.О., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А., Милохина И.В., Тимофеева А.А. Литусова Е.М., Гагарина П.А., Тарасова А.М., Беркович О.А., Пчелина С.Н., Емельянов А.К.571
- ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПРИ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТИ**.....572  
Левченко О. А., Лавров А. В.572
- ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ МИКРОРНК, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ ШИЗОФРЕНИИ**.....573  
Бутенко Е.В., Мамедов Р.Ф., Шкурят М.А.573
- ОЦЕНКА СВЯЗИ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА RS 3025000 ГЕНА *VEGFA* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА У ЖИТЕЛЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ** .....574  
Медведева М.В.Быканова М.А., Клесова Е.Ю., Азарова Ю.Э. , Солодилова М.А.574
- ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ С УСПЕШНОСТЬЮ ВОСХОЖДЕНИЯ НА ВЫСОТЫ БОЛЕЕ 7000 МЕТРОВ** .....576  
Меркурьева В.А., Глотов О.С., Федяков М.А., Золотарева А.Д., Асеев М.В. , И.В. Полякова, М.М. Данилова, Е.С. Вашукова, С.А. Семилеткин, А.С. Глотов, С.Ш. Намозова, Д.А. Алавердян, С.П. Уразов, А.М. Сарана, Щербак С.Г.576
- БРАЧНАЯ СТРУКТУРА, РЕПРОДУКТИВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ И МУТАЦИИ ГЕНА *GJB2* (Cx26) У ГЛУХИХ ЛЮДЕЙ В ЯКУТИИ** .....577  
Романов Г.П., Барашков Н.А., Терютин Ф.М., Лашин С.А., Соловьев А.В., Пшенникова В.Г., Бондарь А.А., Морозов И.В., Сазонов Н.Н., Томский М.И., Джемилева Л.У., Хуснутдинова Э.К., Посух О.Л., Федорова С.А.577
- МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МОНОГЕННЫХ ФОРМ УРОЛИТИАЗА** .....578  
Светличная Д.В., Тадевосян Э. Г., Филиппова Т. В., Хафизов К.Ф., Сперанская А. С. , Асанов А.Ю., Литвинова М. М.578
- СЕЛЕКТИВНОЕ ПРЕИМУЩЕСТВО ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ НОСИТЕЛЕЙ МУТАЦИИ с.-23+1G>A ГЕНА *GJB2* У КОРЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ** .....579  
Соловьев А.В., Барашков Н.А., Терютин Ф.М., Саввинова К.Е., Пшенникова В.Г., Готовцев Н.Н., Романов Г.П., Рафаилов А.М., Томский М.И., Сазонов Н.Н., Джемилева Л.У., Хуснутдинова Э.К., Посух О.Л., Федорова С.А.579
- МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ АНЕВРИЗМ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА** .....580  
Султанова Р.И., Хусаинова Р.И., Хуснутдинова Э.К.580
- ХАРАКТЕРИСТИКА ТИПОВ СЕГРЕГАЦИЙ ХРОМОСОМ В МЕЙОТИЧЕСКОМ ДЕЛЕНИИ У НОСИТЕЛЕЙ РЕЦИПРОКНЫХ ТРАНСЛОКАЦИЙ** .....581  
Тонян З.Н., Трофимова И.Л., Сайфитдинова А.Ф., Логинова Ю.А., Чиряева О.Г., Кинунен А.А., Пастухова Ю.Р. , Леонтьева О.А., Бичева Н.К.581
- ГЕНОФОНД МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК И Y-ХРОМОСОМЫ НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОЙ СИБИРИ ГУННО-САРМАТСКОГО ВРЕМЕНИ (КОНЕЦ I ТЫС. ДО Н.Э. – ПЕРВАЯ ПОЛОВИНА I ТЫС. Н.Э.)**.....582  
Черданцев С.В., Трапезов Р.О., Полосьмак Н.В., Молодин В.И., Пилипенко А.С. 582
- ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНА КОЛЛАГЕНА I ТИПА С РАЗВИТИЕМ ОСТЕОАРТРОЗА У ЖЕНЩИН** .....583  
Шаповалова Д.А. , Тюрин А.В. , Хусаинова Р.И.583
- ОНКОГЕННАЯ РОЛЬ СОЧЕТАНИЙ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ *TP53*, *IL-1*, *LEP* И *CDK4* И ИХ РЕЦЕПТОРОВ**.....584  
Горбунова В.Ю., Воробьева Е.В., Мухиярова И.И., Бакиев Р.Р, Николаев И.В., Попова А.К.584

ГЕНЫ – ПОВЕДЕНИЕ – ЯДЕРНЫЕ АНОМАЛИИ .....	585
Калаев В.Н., Нечаева М.С.585	
КЛЕТКИ СЕРТОЛИ. ОТВЕТ НА АРЕСТ МЕЙОЗА I.....	586
Коломиец О.Л., Новокрещенова А.Н., Лелекова М.А., Спангенберг В.Е.586	
АНАЛИЗ ВОВЛЕЧЕННОСТИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ КЛЮЧЕВЫЕ МОЛЕКУЛЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА В РАЗВИТИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ.....	587
Корытина Г.Ф., Ахмадишина Л.З, Азнабаева Ю.Г., Загидуллин Ш.З., Викторова Т.В.587	
НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЧЕЛОВЕКА .....	588
Моссэ И.Б., Бакунович К.В., Кухтинская Л.В., Чарыкова И.А., Докукина Т.В.588	
КОМПАУНД-ГЕТЕРОЗИГОТА Leu33Pro/Leu40Arg GРIШа В РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ .....	589
Сироткина О.В., Масленников А.Б., Цикаленко Е.А., Вавилова Т.В., Пчелина С.Н.589	
ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ И МЕХАНИЗМОВ, СВЯЗАННЫХ С РАЗВИТИЕМ ДЕПРЕССИИ.....	590
Сломинский П.А., Шадрина М.И., Филатова Е.В., Долотов О.В., Гуляева Н.В., Гехт А.Б. 590	
SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN <i>HERC2</i> (RS12913832) AND <i>OCA2</i> (RS1800407) GENES IN RELATION TO IRIS COLOR VARIATION OF BELARUSIAN POPULATION.....	591
Shapturenko M.N., Vakula S.I., Kandratsiuk A.V., Gudievskaya I.G., Shinkevich M.V., Marchenko L.N., Luhauniou A.U., Borovko S.R., Kilchevsky A.V.591	
ВЛИЯНИЕ ДОФАМИНА <i>IN VITRO</i> НА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ГЕНА АЛЬФА- СИНУКЛЕЙНА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА.....	592
Емельянов А. К., Лавринова А. О., Мельникова Н. В., Дмитриев А. А., Литусова Е. М., Гагарина П. А., Милухина И. В., Беркович О.А., Пчелина С. Н.592	
ИЗУЧЕНИЕ ВКЛАДА АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИЕ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ КЛЕТОК НА ВНЕШНЕЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ.....	593
Коваленко К.А., Машкина Е.В., Букреева А.В., Волосовцова Г.И.593	
ГЕНЫ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ СД2.....	595
Кочетова О.В., Корытина Г.Ф., Авзалетдинова Д. Ш., Мустафина О. Е.595	
TWIN METHOD IN (EPI)GENOMICS, OMICS AND BIOMARKER RESEARCH.....	596
Odintsova V.V., Van Dongen J., Boomsma D596	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РАЗВИТИЕ МИОМЫ МАТКИ ПО ПУТИ МНОЖЕСТВЕННЫХ ИЛИ ЕДИНИЧНЫХ УЗЛОВ.....	597
Осиновская Н.С., Малышева О.В., Швед Н.Ю., Султанов И.Ю., Ефимова О.А, Пендина А.А., Кольцова А.С, Ярмолинская М.И., Баранов В.С.597	
ЭВОЛЮЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МАРКЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ИНДЕКСОМ МАССЫ ТЕЛА И ОЖИРЕНИЕМ .....	598
Попович А.А., Бочарова А.В., Вагайцева К.В., Трифонова Е.А., Степанов В.А.598	
НФКОРОНАРОГЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ СЕРДЦА –ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ ДИАГНОЗА.....	599
Сивицкая Л.Н, Вайханская Т.Г., Левданский О.Д., Курушко Т.В., Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г.599	
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ <i>IL17F</i> (RS763780, RS2397084) В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ .....	600
Смольникова М.В., Горбачева Н.Н., Коноплева О.С., Смирнова С.В.600	
ОСОБЕННОСТИ САТЕЛЛИТНОЙ ДНК ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО КОНСТИТУТИВНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА ХРОМОСОМ 1, 9, 16 В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ И ЭКСТРАЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЯХ ЧЕЛОВЕКА.....	601
Трофимова И.Л., Евдокименко Е.В., Кузнецова Т.В., Добрынин М.А., Енукашвили Н.И.601	
<b>Симпозиум V: Генетические основы селекции / Symposium V: The Genetic Basis for Breeding..</b>	<b>602</b>

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ ПО УРОЖАЙНОСТИ И КАЧЕСТВУ ЗЕРНА .....	602
Абделькави Р.Н.Ф.602	
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА <i>Lr19</i> В ОБРАЗЦАХ КОЛЛЕКЦИИ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ.....	603
Груздев И.В. , Пырсигов А.С. , Гарибян Ц.С. , Коленков М.А.603	
ПРОБЛЕМЫ СИСТЕМАТИКИ ПРИМИТИВНЫХ КУЛЬТУРНЫХ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ.....	604
Гурина А.А., Костина Л.И.604	
<i>a.gurina@vir.nw.ru</i> .....	604
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПРОМОТОРАХ pro-SmAMP1 И pro-SmAMP2 ИЗ РАСТЕНИЯ <i>STELLARIA MEDIA</i> .....	605
Ефремова Л.Н., Комахин Р.А.605	
ФОРМИРОВАНИЕ ГЕНОМОВ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ 1Rv(1A) × R F <sub>5</sub> ПОКОЛЕНИЯ.....	606
Логина Д.Б., Иванова Ю.Н., Соловей Л.М., Бондаревич Е.Б., Сычева Е.А., Дубовец Н.И., Силкова О.Г.606	
АЛЛЕЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНА ПОЛА CSD МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ В УСЛОВИЯХ ПЛЕМЕННОГО ХОЗЯЙСТВА И ЕСТЕСТВЕННОГО РАЗВЕДЕНИЯ.....	607
Каскинова М.Д. , Салтыкова Е.С., Николенко А.Г.607	
ВЛИЯНИЕ ИЗОГЕНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ НА ЛОКОМОТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ ИМАГО <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> , МУТАНТНЫХ ПО ГЕНУ WHITE.....	608
Костенко В.В., Бабынин Э.В.608	
ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ И ФЛАВОНОИДОВ В ПЛОДАХ ТОМАТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ИХ ГЕНОВ .....	609
Некрашевич Н.А., Бабак О.Г., Никитинская Т.В., Яцевич К.К., Пугачева И.Г., Добродькин М.М., Кильчевский А.В.609	
ОТВЕТ ГЕНОТИПОВ ЛЬНА НА ЗАРАЖЕНИЕ <i>Fusarium oxysporum</i> .....	610
Новаковский Р.О., Рожмина Т.А., Краснов Г.С., Кудрявцева Л.П., Дмитриев А.А., Мельникова Н.В.610	
ЧАСТОТА И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ У ПОРОД ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ ( <i>GALLUS GALLUS</i> ).....	611
Тишакова К.В., Малиновская Л.П. , Волкова Н.А., Бородин П.М.611	
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ Glu-A1 И Glu- B1 У ОБРАЗЦОВ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ .....	612
Турбаев А.Ж., Милюкова Н.А., Дудников М.В., Ермоленко О.И., Соловьев А.А.612	
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ НОВЫХ ОРТОЛОГОВ ДИГИДРОАСКОРБАТРЕДУКТАЗЫ DHAR1 У ДИКОРАСТУЩИХ И КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ВИДОВ ТОМАТА ( <i>SOLANUM SECTION LYCOPERSICON</i> ) .....	613
Тяпкина Д.Ю., Слугина М.А.613	
ИЗУЧЕНИЕ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ОЗИМОМУ СОРТУ БЕЗОСТАЯ 1 С КОМБИНАЦИЕЙ ДОМИНАНТНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ЛОКУСОВ <i>VRN-1</i> .....	614
Чуманова Е.В. , Ефремова Т.Т., Кручинина Ю.В.614	
AFLP-АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СОРТОВ ЯБЛОНИ ( <i>MALUS DOMESTICA</i> BORKH.) НАРОДНОЙ СЕЛЕКЦИИ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР .....	615
Шлявас А.В., Трифонова А.А., Дедова Л.В., Борис К.В., Кудрявцев А.М.615	
РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ ПРИ СОЗДАНИИ РЕКОМБИНАНТОВ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ПРИЗНАКАМ КАЧЕСТВА КЛЕЙКОВИНЫ И АДАПТИВНОСТИ В ФГБНУ «САМАРСКИЙ НИИСХ» .....	616
Шевченко С.Н., Мальчиков П.Н., Мясникова М.Г., Винченцо Н.616	
СОЗДАНИЕ, ГЕНОТИПИРОВАНИЕ И ФЕНОТИПИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ИНТРОГРЕССИРОВАННЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ КЛЕЙКОВИНЫ В ЗЕРНЕ .....	617
Щукина Л.В., Симонов А.В., Пшеничникова Т.А., Шаманин В.П.617	

ОЦЕНКА ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ГРЕЧИХИ НА СОДЕРЖАНИЕ РУТИНА .....	618
Никитина В.И.618	
COMPUTER TOOLS FOR BRAIN TRANSCRIPTIONAL PROFILING IN RATS MODELS .....	620
Chadaeva I.V., Bragin A.O., Kovalev S.S., Galieva A.G., Markel A.L., Orlov Y.L.620	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И СЕЛЕКЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ СОДЕРЖАНИЯ И СТРУКТУРЫ АРАБИНОКСИЛАНОВ ОЗИМОЙ РЖИ .....	621
Пономарев С.Н., Пономарева М.Л., Маннапова Г.С., Гильмуллина Л.Ф., Горшкова Т.А., Козлова Л.В., Горшков О.В., Мокшина Н.Е., Назипова А.Р.621	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ РЖИ В РОССИИ .....	622
Пономарева М.Л., Пономарев С.Н. 622	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ СОРТОВ УНИВЕРСАЛЬНОЙ РЖИ С НИЗКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ВОДОРАСТВОРИМЫХ АРАБИНОКСИЛАНОВ, ЗЕРНО КОТОРЫХ ПРИГОДНО ДЛЯ ЗЕРНОФУРАЖНОЙ И ХЛЕБОПЕКАРНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ.....	623
Кобылянский В.Д., Солодухина О.В.623	
ХАРАКТЕРИСТИКА ОБРАЗЦОВ AEGILOPS TAUSCHII И AE. UMBELLULATA НОВЫХ ПОСТУПЛЕНИЙ КОЛЛЕКЦИИ ВИР ПО ЭФФЕКТИВНОЙ ЮВЕНИЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К БОЛЕЗНЯМ И НАЛИЧИЮ ИЗВЕСТНЫХ ГЕНОВ КОРОТКОСТЕБЕЛЬНОСТИ.....	624
Колесова М.А., Сидоров А.В., Тырышкин Л.Г., Белоусова М.Х., Бекиш Л.П., Чикида Н.Н.624	
РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ И ИНБРИДИНГА В СЕЛЕКЦИИ ГРЕЧИХИ .....	625
Фесенко А.Н., Фесенко И.Н.625	
ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА СКВАЛЕН- СИНТАЗЫ У РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ АМАРАНТА .....	626
Щербань А.Б., Стасюк А.И., Салина Е.А.626	
МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПАСТБИЩНЫХ ТРАВ ИЗ ТРИБЫ AVENEAE/POEAE (POACEAE).....	627
Амосова А.В., Родионов А.В., Зошук С.А., Юркевич О.Ю., Саматадзе Т.Е., Лоскутов И.Г., Муравенко О.В.627	
ОЦЕНКА ПЛАСТИЧНОСТИ НОВЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ.....	629
Джаббаров И.Ш.629	
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПРИЗНАКОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ АДАПТАЦИЮ И УСТОЙЧИВОСТЬ К СТРЕССАМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИ МАРКИРОВАННЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ .....	631
Ефремова Т.Т., Чуманова Е.В.631	
ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТНОЙ ДИНАМИКИ ВНУТРИПОПУЛЯЦИОННОЙ АДДИТИВНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ВЫСОТЫ СТВОЛА НА ВЫБОР СЦЕНАРИЯ РАЗВИТИЯ СЕМЕНОВОДСТВА У СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ.....	632
Камалов Р.М.632	
ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В КОНТРОЛЬ СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ШТАММОВ <i>SINORHIZOBIUM MELILOTI</i> .....	633
Курчак О.Н., Онишук О.П., Чижевская Е.П., Симаров Б.В.633	
ИЗУЧЕНИЕ ОРГАНИЗАЦИИ ПРОФАЗНОГО ЯДРА У ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ (ABDR, 4X=28) С РАЗЛИЧНЫМ ПАТТЕРНОМ МЕЙОТИЧЕСКОГО ДЕЛЕНИЯ.....	634
Логинава Д.Б., Силкова О.Г.634	
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГИБРИДНЫХ СЕЯНЦЕВ ЯБЛОНИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ИММУННЫХ К ПАРШЕ (ГЕН <i>Rv16</i> ) ГЕНОТИПОВ С КОЛОННОВИДНЫМ ГАБИТУСОМ РОСТА (ГЕН <i>CO</i> ).....	635
Акимов М.Ю., Лыжин А.С., Савельева Н.Н.635	
МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СУБЪЕДИНИЦ ГЛЮТЕНИНА <i>T. DICOCOIDES</i> .....	636
Орловская О.А., Яцевич К.К., Вакула С.И., Хотылева Л.В., Кильчевский А.В.636	

СЕЛЕКЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ НА БОЛЬШОЙ И МАЛЫЙ ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ ВЕС МОЗГА: ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОВЕДЕНИЯ. ....	637
Перепелкина О.В., Огиенко Н.А., Лильп И.Г., Полетаева И.И.637	
ПОЛУЧЕНИЕ ГАПЛОИДОВ НА ОСНОВЕ ГЕНА САМОНЕСОВМЕСТИМОСТИ У ЯБЛОНИ И ГРУШИ .....	638
Попов Г.Д.638	
ГЕНЫ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ, ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫЕ В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЛЬНА И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ .....	639
Пороховинова Е.А., Павлов А.В., Кутузова С.Н., Брач Н.Б.639	
КАРИОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОРТОВ И МУТАНТНЫХ ФОРМ <i>CALENDULA OFFICINALIS</i> L.....	640
Саматадзе Т.Е., Юркевич О.Ю., Хазиева Ф.М., Свистунова Н.Ю., Морозов А.И., Амосова А.В., Муравенко О.В.640	
ВНУТРИВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОМОВ ОРГАНЕЛЛ ЯЧМЕНЯ ( <i>HORDEUM VULGARE</i> L.) НА ПРИМЕРЕ КОЛЛЕКЦИИ АЛЛОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ.....	641
Синявская М.Г., Макаревич А.Е., Панкратов В.С., Луханина Н.В., Голоенко И.М., Левданский О.Д., Шимкевич А.М., Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г.641	
КОЛЛЕКЦИЯ <i>SOLANUM ANDIGENUM</i> JUZ. ET BUK., КАК ИСТОЧНИК ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНОГО КАРТОФЕЛЯ. ....	642
Ситников М.Н., Киру С.Д.642	
НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ СИСТЕМАТИКИ ГОЛОЗЕРНОЙ ПОЛБЫ ( <i>TRITICUM DICOCUM</i> (SCHRANK) SCHUEBL. ....	643
Смекалова Т.Н., Кобылянский В.Д.643	
ОЦЕНКА ВНУТРИВИДОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОТИПОВ <i>CALENDULA OFFICINALIS</i> L. ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ МУТАГЕНОВ .....	644
Хазиева Ф.М., Свистунова Н.Ю., Саматадзе Т.Е. 644	
СКРИНИНГ ОБРАЗЦОВ МИРОВОГО ГЕНОФОНДА ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ К ВОЗБУДИТЕЛЮ ЖЕЛТОЙ РЖАВЧИНЫ В УСЛОВИЯХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ .....	645
Грицай Т.И., Худокормова Ж.Н., Полевинова Н.А., Аблова И.Б.645	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ОТБОРА В ПРОЦЕССЕ ИНТРОДУКЦИИ ПАЖИТНИКА НА СЕВЕРНОМ КAVKAZE .....	646
Чумакова В.В., Чумаков В.Ф.646	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ СОРТОВ УНИВЕРСАЛЬНОЙ РЖИ С НИЗКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ВОДОРАСТВОРИМЫХ АРАБИНОКСИЛАНОВ, ЗЕРНО КОТОРЫХ ПРИГОДНО ДЛЯ ЗЕРНОФУРАЖНОЙ И ХЛЕБОПЕКАРНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ.....	647
Кобылянский В.Д., Солодухина О.В.647	
<b>Симпозиум VI: Посттрансляционные процессы / Symposium VI: Posttranslational Processes....</b>	<b>648</b>
DIFFERENTIAL EFFECTS OF MOLECULAR CHAPERONES AND PROTEIN-SORTING FACTORS ON YEAST PRIONS .....	648
Barbitoff Y.A., Matveenko A.G., Moskalenko S.E., Zemlyanko O.M., Jay-Garcia L.M., Newnam G.P., Patel A., Chernoff Y.O., Zhouravleva G.A.648	
HUMAN NUCLEOPORIN NUP58 IS A NEW AMYLOID WHICH IS COLOCALIZED WITH 103QP PROTEIN IN YEAST MODEL .....	649
Danilov L.G., Matveenko A.G., Belousov M.V., Moskalenko S.E., Bondarev S.A., Zhouravleva G.A.649	
MUTATIONS IN C-PART OF SUP35 INFLUENCE PROPERTIES OF $[PSI^+]$ FACTOR IN YEASTS .....	650
O.M. Zemlyanko, E.M. Maksutenko, N.P. Trubitsina, T.M. Rogoza, E.I. Porfirieva, G.A. Zhouravleva.650	
EFFECT OF SHORT-TERM DROUGHT ON PEA SEED METABOLOME.....	651
Kuznetsova A., Chantseva V., Vikhnina M., Shiroglazova O., Soboleva A., E. Dinastia, Dorn M., Grishina T., Shumilina J., Smolikova G., Medvedev S., Bilova T., Wessjohann L. A., Frolov A.651	
PREDICTION OF AMYLOIDOGENIC PROTEINS INTERACTING WITH HUMAN FUNCTIONAL AMYLOIDS RIP1 AND RIP3.....	652
Matiiv A.B., Bondarev S.A., Danilov L.D., Zhouravleva G.A.652	

USAGE OF RED FLUORESCENT PROTEINS FOR VISUALIZATION OF $[PSI^+]$ AGGREGATES .....	653
Ryzhkova V. E., Matveenko A. G., Danilov L. G., Bondarev S. A., Zhouravleva G. A.653	
ТОН1 – НОВЫЙ АМИЛОИДОПОДОБНЫЙ БЕЛОК КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> , ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИЙ С БЕЛКАМИ-ПРИОНАМИ RNQ1 И SUP35 .....	654
Сергеева А.В. , Сопова Ю.В., Белашова Т.А., Галкин А.П., Задорский С.П.654	
CHARACTERISTIC OF $[PSI^+]$ PRION VARIANTS WITH PREDICTED STRUCTURE OF SUP35 AGGREGATES .....	655
Smirnova E. Y. , Likholetova D.V., Zemlyanko O.M., Bondarev S.A., Zhouravleva G.A.655	
STUDY OF THE AMYLOID CHARACTERISTIC OF PROTEINS UBQLN1 AND UBQLN2 IN THE YEAST <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> .....	656
Sukhanova K.V. , Danilov L.G , Bondarev S.A. , Zhouravleva G.A. 656	
НОНСЕНС-МУТАЦИЯ <i>SUP35-74</i> ПРИВОДИТ К ИЗМЕНЕНИЮ СВОЙСТВ ПРИОНА $[PSI^+]$ У ДРОЖЖЕЙ <i>S.CEREVISIAE</i> .....	657
Трубицина Н.П., Землянко О.М., Рогоза Т.М. Максютенко Е.М., Белоусов М.В., Бондарев С.А., Журавлева Г.А.657	
БЕЛОК MUNC18-1 ФОРМИРУЕТ ДЕТЕРГЕНТ-УСТОЙЧИВЫЕ АМИЛОИДОПОДОБНЫЕ АГРЕГАТЫ В МОЗГЕ КРЫСЫ <i>RATTUS NORVEGICUS</i> .....	658
Чиринскайте А.В., Синюкова В.А., Велижанина М.Е., Белашова Т.А., Сопова Ю.В., Задорский С.П., Галкин А.П.658	
ПОИСК И ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ АМИЛОИДНЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА .....	659
Москаленко С.Е., Сергеева О.С., Бондарев С.А., Журавлева Г.А.659	
ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ <i>GIC1</i> И <i>GIC2</i> ВЛИЯЕТ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ НА ФОНЕ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ <i>SUP35</i> И <i>SUP45</i> У ДРОЖЖЕЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> .....	660
Рогоза Т.М., Москаленко С.Е., Землянко О.М., Матveenко А.Г., Барбитов Ю.А., Бондарев С.А., Журавлева Г.А.660	
О РОЛИ CYDDC КОМПЛЕКСА В УСТАНОВЛЕНИИ ЦИСТЕИН-ЗАВИСИМОГО РЕДОКС-БАЛАНСА В КЛЕТКАХ <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	661
Серегина Т., Нагорных М., Шакулов Р., Миронов А.661	
<b>Симпозиум VII: Эволюционная генетика / Symposium VII: Evolutionary Genetics</b> .....	662
ПОЗИТИВНЫЙ ОТБОР В ПОПУЛЯЦИЯХ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM BV. TRIFOLIИ .....	662
Аксенова Т. С. , Онищук О.П., Курчак О.Н., Иголкина А.А., Андронов Е.Е., Проворов Н.А.662	
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НОВОГО ВИДА ДРОЖЖЕЙ РОДА <i>SACCHAROMYCES: S. JUREI</i> .....	663
Боровкова А.Н., Шнырёва А.В., Наумова Е.С.663	
GERMLINE RESTRICTED CHROMOSOME AT THE LAMPBRUSH STAGE IN ZEBRA FINCH KARYOTYPE .....	664
Volodkina V. , Rubtsov N., Zadesenets K., Saifitdinova A., Kulak M., Galkina S., Gaginskaya E.664	
ОСОБЕННОСТИ НОВОГО БЕЛКА АСЦИДИИ <i>Styela rustica</i> , РУСТИКАЛИНА, ДЕМОНИСТРИРУЮТ ГОРИЗОНТАЛЬНУЮ ПЕРЕНОС ЕГО ГЕНА .....	665
Даугавет М.А., Шабельников С.В., Шапошникова Т.Г., Адонин Л.С., Подгорная О.И.665	
ДЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ВВЕДЕНИЯ ОКСИТОЦИНА И ИНГИБИТОРА РЕЦЕПТОРА ОКСИТОЦИНА В АДЮЛЕСЦЕНТНЫЙ ПЕРИОД НА РЕАКЦИЮ ВЗДРАГИВАНИЯ И ПРЕСТИМУЛЬНОЕ ТОРМОЖЕНИЕ У КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕКТОРА ОТБОРА ПО ПОВЕДЕНИЮ .....	666
Кожемякина Р.В., Шихевич С.Г., Гулевич Р.Г.666	
ПОСТРОЕНИЕ ЭВОЛЮЦИОННОЙ МОДЕЛИ АЛЛОПОЛИПЛОИДИЗАЦИИ <i>TH. PONTICUM</i> НА ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ ЕГО РЕПИТОМА .....	667
Кузнецова В.М., Кругин П.Ю., Дивашук М.Г., Карлов Г.И.667	

СТРУКТУРА ГЕНОФОНДА И ВЫЯВЛЕНИЕ ФАКТОРА ОТБОРА В ПОПУЛЯЦИЯХ ВОЛГО-УРАЛЬСКОГО РЕГИОНА ПО ДАННЫМ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ (NGS).....	668
Лукьянова Е.Н. , Балановская Е.В., Балановский О.П.668	
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ БЕТА-ГАЛАКТОЗИДАЗНЫХ ГЕНОВ <i>LAC4</i> ДРОЖЖЕЙ <i>KLUYVEROMYCES LACTIS</i> .....	669
Лютлова Л.В., Шнырёва А.В. , Наумова Е.С.669	
ДЕТСКИЕ САДЫ И РЕПРОДУКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ АНАДРОМНОЙ И ЖИЛОЙ ФОРМ ТРЕХИГЛОЙ КОЛЮШКИ БЕЛОГО МОРЯ В ЗОНЕ СИМПАТРИИ.....	670
Мюге Л.Н., Барминцева А.Е., Мюге Н.С.670	
АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА SNP-МАРКЕРОВ ГЕНОВ НЕСОКРАТИТЕЛЬНОГО ТЕРМОГЕНЕЗА <i>UCP1</i> (rs1800592), <i>UCP2</i> (rs659366) И <i>UCP3</i> (rs2075577) У ЯКУТОВ И ЧУКЧЕЙ .....	671
Никанорова А.А. , Барашков Н.А., Дьяконов Е.Е., Находкин С.С., Пшенникова В.Г., Соловьев А.В., Кузьмина С.С., Томский М.И., Бурцева Т.Е., Федорова С.А.671	
АССОЦИИРОВАННЫЙ С ПОЛОМ УЧАСТОК ГЕНОМА ТОПОЛЯ .....	672
Пушкова Е.Н., Борхерт Е.В., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А.672	
ЭВОЛЮЦИОННО - ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РОЛИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ ГЕНОВ ПЛАЦЕНТЫ В ФОРМИРОВАНИИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ПРЕЭКЛАМПСИИ .....	673
Сереброва В.Н., Трифонова Е.А., Степанов В.А.673	
ЭКСПРЕССИЯ ВЫСОКОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА <i>Dras1</i> .....	674
Сивопляс Е.А., Максимчук М.Д. ,Белкина Е.Г., Лазебный О.Е., Куликов А.М.674	
PHYLOGENETIC STRUCTURE AND PHYLOGEOGRAPHY OF THE LITTLE OWL <i>ATHENE NOCTUA</i> GROUP .....	675
Starikov I.J., Wink M.675	
ЗАКОН ГОМОЛОГИЧЕСКИХ РЯДОВ ВАВИЛОВА И ПРИНЦИП ФАЛЬСИФИКАЦИИ ПОППЕРА .....	676
Суслов В.В., Пономаренко М.П., Расказов Д.А.676	
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС, СЕЛЕКЦИОНИРОВАННЫХ НА РУЧНОЕ И АГРЕССИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ.....	677
Чадаева И.В., Климова Н.В. , Шихевич С.А., Кожемякина Р.В.677	
ЭВОЛЮЦИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ОБЛАСТИ ПРОМОТОРА КОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА <i>DRAS1</i> У ДРОЗОФИЛ .....	678
Чекунова А.И, Сорокина С.Ю., Бахтояров Г.Н., Куликов А.М.678	
РАННИЙ ООГЕНЕЗ ЖИВОРОДЯЩЕЙ ЯЩЕРИЦЫ <i>Zootoca vivipara</i> , В ПРОФАЗЕ 1 МЕЙОЗА. ....	679
Куприянова Л.А. , Сафронова Л.Д. , АЦитрина.А. , Чекунова А.И , Осипов Ф.А.679	
СТРУКТУРА И ЭВОЛЮЦИЯ ЦЕНТРОМЕРНОГО ГИСТОНА <i>SEN3</i> У ВИДОВ ТРИБЫ <i>TRITICEAE</i> .....	680
Вершинин А.В., Евтушенко Е.В., Елисафенко Е.А., Гацкая С.С.680	
rRNA GENE AMPLIFICATION IN OOGENESIS .....	681
Gaginskaya, E.R., A.G. Davidian, E.I. Koshel, A.G. Dyomin, A.A. Sokolovskaya, M.M. Kulak, A.F. Saifitdinova, S.A. Galkina681	
МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК УЧАСТВУЕТ В РЕКОМБИНАЦИИ .....	682
Гребельный С.Д.682	
SEQUENCES DIVERGENCE IN SYMPATRIC AND ALLOPATRIC POPULATIONS AND HETEROPLASMY OF CHLOROPLAST DNA IN <i>HEDYSARUM AUSTROSIBIRICUM</i> AND <i>H. CONSANGUINEUM</i> ( <i>FABACEAE</i> ) .....	683
Dorogina O.V., Nuzhdina N.S., Bondar A.A.683	

ИМПОРТ ДНК В МИТОХОНДРИИ: ЧЕРЕЗ ВЫЯВЛЕНИЕ МЕХАНИЗМА К ВОЗМОЖНЫМ ГЕНЕТИЧЕСКИМ ФУНКЦИЯМ И ПРИЛОЖЕНИЯМ.....	684
Тарасенко В.И., Тарасенко Т.А., Клименко Е.С., Субота И.Ю., Шмаков В.Н., Кулинченко М.В., Константинов Ю.М.684	
СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БЕЛКА QTC <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> .....	685
Куликов А.М. , Горностаев Н.Г., Кравчук О.И.685	
СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВИДОВ РОДА <i>HEDYSARUM</i> L. (FABACEAE).....	686
Муравенко О.В., Саматадзе Т.Е., Зошук С.А., Амосова А.В., Юркевич О.Ю.686	
ФИЛОГЕНЕТИКА, ЭКОЛОГИЯ И биогеография АСКОМИЦЕТОВЫХ дрожжей РОДА <i>Komagataella</i> .....	687
Наумова Е.С. , Наумов Г.И.687	
ВКЛАД МИТОГЕНОМИКИ В МОЛЕКУЛЯРНУЮ ФИЛОГЕНЕТИКУ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ: СООТВЕТСТВИЕ МЕЖДУ ГЕННЫМИ И ВИДОВЫМИ ДЕРЕВЬЯМИ.....	688
Олейник А.Г.688	
ФЕНОМЕН ВОЗНИКНОВЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПАТОГЕНОВ В СВЕТЕ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА ДЕТЕРМИНАНТ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ ИЗ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ .....	689
Петрова М.А., Миндлин С.З.689	
ФРАГМЕНТЫ ЭЛЕМЕНТА LINE КАК ПРЕДЕЛЬНЫЙ СЛУЧАЙ ДОМЕСТИФИКАЦИИ ТРАНСПОЗОНОВ.....	690
Подгорная О , Соловьева А, Адонин Л, Остромышенский Д690	
СИМБИОТИЧЕСКИЕ ХЛОРЕЛЛЫ, ИХ ВИРУСЫ И ХОЗЯЕВА - ИНФУЗОРИИ <i>PARAMESCIUM BURSARIA</i> : КОЭВОЛЮЦИЯ В ТРОЙНОЙ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ.....	691
Раутиан М.С., Белявская А.Я., Киселев А.Д.691	
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ РОЛИ НЕКОДИРУЮЩЕЙ ДНК В ЭНДОГЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОМА .....	692
Шкурат Т.П.692	
МАЖОРНЫЕ ГАПЛОГРУППЫ И ВЛИЯНИЕ ПОПУЛЯЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ НА ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ.....	693
Балинова Н.В., Спицына Н.Х., Джаубермезов М.А., Зинченко Р.А.693	
PHYLOGENY AND PHYLOGEOGRAPHY OF SIBLING-SPECIES <i>SICISTA</i> OF BETULINA GROUP (RODENTIA, DIPODOIDEA) BASED UPON A SEQUENCING ANALYSIS OF <i>CYTB</i> GENE OF MITOCHONDRIAL AND <i>IRBP</i> GENE OF NUCLEAR DNA .....	694
Baskevich M.I., Bogdanov A.S., Potapov S.G., Khlyap L.A., Oparin M.L., Sheftel B.I., Stakheev V.V.694	
УРБАНИЗАЦИЯ И ДОМЕСТИКАЦИЯ.....	695
Брагин А.О., Чадаева И.В., Суслов В.В., Орлов Ю.Л.695	
МЕХАНИЗМЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДОМЕСТИКАЦИИ ЛИСИЦ: ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСКРИПТОМА И МЕТИЛОМА ГИППОКАМПА.....	696
Гербек Ю.Э. , Генаев М.А., Васильев Г.В., Александрович Ю.В., Ощепков Д.Ю., Бабенко В.Н., Мейстер Л.В., Игнатъева Е.В., Шепелева Д.В., Шихевич С.Г., Гулевич Р.Г., Харламова А.В., Афонников Д.А., Трут Л.Н.696	
НОВЫЕ ДАННЫЕ ПО ЦИТОГЕНЕТИКЕ КЛОПОВ-КРУЖЕВНИЦ (TINGIDAE, НЕТЕРОПТЕРА, ИНСЕКТА) .....	697
Голуб Н.В., Голуб В.Б., Кузнецова В.Г.697	
АРХИТЕКТУРА АЛГОРИТМА ПО ПЕРЕНОСУ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ МЕЖДУ ВИДАМИ НА ОСНОВЕ ДАННЫХ NGS-СЕКВЕНИРОВАНИЯ.....	698
Крупин П.Ю.698	
ГОМЕОБОКСНЫЕ ГЕНЫ НА РЕГУЛЯТОРНОМ ПЕРЕКРЕСТКЕ: ЧТО ИЗ НОВОГО – ХОРОШО ЗАБЫТОЕ СТАРОЕ? .....	699
Остен В.Г., Кулакова М.А.699	

АНТИРЕСТРИКЦИОННЫЕ БЕЛКИ СЕМЕЙСТВА Ard: СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ И РОЛЬ В ГОРИЗОНТАЛЬНОМ ПЕРЕНОСЕ ГЕНОВ. ....	700
Мелькина О. Е., Котова В. Ю., В. П. Балабанов, А. А. Кудрявцева, И. В. Манухов, Завильгельский Г. Б. 700	
О ПОЛОЖЕНИИ ПОДТРИБЫ COLEANTHINAE В СЕМЕЙСТВЕ ROACEAE – НОВЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ .....	701
Носов Н. Н., Гнутиков А. А., Е. О. Пунина, Н. С. Пробатова, Родионов А. В. 701	
БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОМЕНА ХРОМОСОМ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК ..	702
Сайфитдинова А. Ф. 702	
ФИЛОГЕОГРАФИЯ ХАРИУСОВ ЕВРАЗИИ ПО ДАННЫМ ИЗМЕНЧИВОСТИ СУТ В МТДНК .....	703
Слынько Ю. В., Скопец М. Б., Скворцова Е. Г., Филиппинская О. В., Слынько Е. Е. 703	
К ВОПРОСУ О ПРОИСХОЖДЕНИИ, ЭВОЛЮЦИИ И РАЗВИТИИ ОДНОПОЛОГО ЦВЕТКА .....	704
Солдатова О. П. 704	
ДИЦЕНТРИЧЕСКИЕ ХРОМОСОМЫ СКАЛЬНЫХ ЯЩЕРИЦ РОДА DAREVSKIA .....	705
Спангенберг В. Е., Аракелян М. С., Лелекова М. А., Коломиец О. Л. 705	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОМОВ ЛУКОВ: ОЦЕНКА СКОРОСТИ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМОВ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПЕРЕСТРОЕК И ОСОБЕННОСТЕЙ, СВИДЕТЕЛЬСТВУЮЩИХ ОБ АДАПТАЦИИ К РАЗЛИЧНЫМ ЭКОЛОГИЧЕСКИМ НИШАМ .....	706
Сперанская А. С., Криницына А. А., Омельченко Д. О., Беленикин М. С., Антипин М. И., Купцов С. В., Логачева М. Д., Коноров Е. А., Скобеева В. А. 706	
КАРТИРОВАНИЕ ГЕНОМОВ ПОСТЗИГОТИЧЕСКОЙ НЕСОВМЕСТИМОСТИ ПШЕНИЦЫ И РЖИ ПО РАЗНЫМ СТОРОНАМ ТОЧКИ РАЗРЫВА ЭВОЛЮЦИОННОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ В ХРОМОСОМЕ 6R .....	707
Цветкова Н. В., Тихенко Н. Д., Хакауф Б., Войлоков А. В. 707	
ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ <i>PULSATILLA PATENS</i> S.L. (RANUNCULACEAE) ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ЕВРОПЕЙСКОМ СЕВЕРО-ВОСТОКЕ РОССИИ, НА ОСНОВАНИИ СРАВНЕНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНОМОВ <i>MTK</i> И <i>RBCL</i> .....	708
Шадрин Д. М., Валуйских О. Е., Тетерюк Л. В., Пылина Я. И., Сушенцов О. Е. 708	
SHARED SIGNATURES OF SELECTION RELATED TO ADAPTATION AND ACCLIMATION IN GENOMES OF CATTLE AND SHEEP BREEDS FROM RUSSIA .....	709
Yudin N.S., Larkin D.M. 709	
EARLY METABOLISM THROUGH HYDROGEN ACTIVATION .....	710
Preiner M., Yu M., Muchowska K., Tüysüyz H., Moran J. Martin W. F. 710	
MITOCHONDRIAL GENOME ANALYSIS AND HAPLOGROUP DETERMINATION IN HUMAN SKELETONS .....	711
Arıcan E., Altınışık E. 711	
A CYTOLOGICAL BASIS FOR HYBRID MALE STERILITY IN MALARIA MOSQUITOES AT THE EARLY STAGE OF SPECIATION .....	712
Sharakhov I.V., Liang J. 712	
ИНТРОГРЕССИИ И ХРОМОСОМНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ НЕ ВЛИЯЮТ НА АКТИВНОСТЬ ГЛИАДИНКОДИРУЮЩИХ ГЕНОМОВ В ЛИНИЯХ ГИБРИДОВ <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L. × <i>AEGILOPS COLUMNARIS</i> ZHUK. ....	713
Новосельская-Драгович А. Ю., Янковская (Шишкина) А. А., Бадаева Е. Д. 713	
<b>Симпозиум VIII: Структурная и функциональная протеомика / Symposium VIII: Structural and Functional Proteomics</b> .....	714
ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БЕЛКОВЫЕ ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ <i>MYCOPLASMA GALLISEPTICUM</i> .....	714
Евсютина Д. В., Побегуц О. В., Букато О. Н., Бутенко И. О., Фисун Г. Ю. 714	

RopA AND RopB: NOVEL AMYLOID-FORMING PROTEINS OF THE ROOT-NODULE BACTERIUM RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM.....	715
Kosolapova A.O., Belousov M.V., Belousova M.E., Antonets K.S., Shtark O.Y., Nizhnikov A.A. 715	
ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВОГО ПРОФИЛЯ ПЛЕРОЦЕРКОИДОВ SCHISTOCERPHALUS SOLIDUS ПОСЛЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ИНКУБАЦИИ ПРИ 40° С .....	716
Кочнева А.А., Борвинская Е.В., Бедулина Д.С. 716	
ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОТЕОМА И ТРАНСКРИПТОМА ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE ПРИ ПЕРЕХОДЕ К АНАЭРОБНЫМ УСЛОВИЯМ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ.....	717
Мещерякова И. А.*, Банникова С. В., Розанов А. С., Ощепков Д. Ю., Васильев Г. В., Демидов Е. А., Слынько Н.М., Старостин К. В., Пельтек С. Е. 717	
ТРАНСКРИПТ <i>OPISTHORCHIS FELINEUS</i> , КОДИРУЮЩИЙ БЕЛОК С АВТОНОМНЫМ ДОМЕНОМ SAPOSIN В .....	718
Пирожкова Д.С., Катохин А.В. 718	
ВЫЯВЛЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ АМИЛОИДОВ В ООЦИТАХ DROSOPHILA MELANOGASTER И GALLUS GALLUS DOMESTICUS.....	719
Синюкова В.А., Рыжкова К.В., Сопова Ю.В., Белашова Т.А., Галкина С.А., Галкин А.П. 719	
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДОМЕНА С НЕИЗВЕСТНЫМИ ФУНКЦИЯМИ ТЕЛОМЕР-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА TRF2 С ЯДЕРНОЙ ЛАМИНОЙ .....	720
Травина А.О., Ильичева Н.В., Воронин А.П., Подгорная О.И. 720	
ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ В СЕКРЕТОМЕ МХА <i>RHYSCOMITRELLA PATENS</i> .....	721
Филиппова А.А., Фесенко И.А., Ляпина И.С., Хазигалева Р.А. 721	
БЕЛОК МВР, СТАБИЛИЗИРУЮЩИЙ МИЕЛИНОВЫЕ ОБОЛОЧКИ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН, ФУНКЦИОНИРУЕТ В МОЗГЕ В АМИЛОИДНОЙ КОНФОРМАЦИИ .....	722
Шенфельд А.А., Сопова Ю.В., Белашова Т.А., Галкин А.П. 722	
THE EFFECTS OF EXOGENIC ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS (AGEs) ON CULTURED RHIZOBIA.....	723
Shumilina J., Dinastia E., Tsarev, A. Kuznetsova A., Akhtemova G., Grishina T., Zhukov V., I. Tikhonovich, Westermann B., Frolov A. 723	
ВЛИЯНИЕ СМЕЖНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ НА АГРЕГАЦИЮ АМИЛОИДОГЕННЫХ ДОМЕНОВ БЕЛКОВ.....	724
Гризель А.В., Гризель А.В., Рубель А.А., Чернов Ю.О. 724	
АНАЛИЗ И МОДЕЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГАМЕТ КУКУРУЗЫ.....	725
Гусев Ю.С., Мазилев С.И., Моисеева Е.М., Волохина И.В., Чумаков М.И. 725	
MOLECULAR MAPPING OF POSTGENOMIC DATA: FROM METABOLITES TO GENES .....	726
Kaysheva A. L., Stepanov A. A., Kopylov A. T., Lisitsa A. V. 726	
ПЕРЕДАЧА ПРИОНОВ ИЗ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ В КЛЕТКИ ДРОЖЖЕЙ .....	727
Куличихин К.Ю., Рубель А.А., Форберг И.М., Чернов Ю.О. 727	
МЕЖИНДИВИДУАЛЬНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ FDA-ОДОБРЕННЫХ БЕЛКОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ .....	728
Новикова С.Е., Фарафонова Т.Е., Шушкова Н.А., Згода В.Г. 728	
STRUCTURAL ADAPTATIONS AND SUBSTRATE INTERACTIONS IN SHORT-CHAIN NADP-DEPENDENT ALCOHOL DEHYDROGENASES FROM EXTREMOPHILIC ORGANISMS .....	729
Popinako A.V., Bezsudnova E.Yu., Popov V.O. 729	
<b>Симпозиум IX: Медицинская генетика и моделирование болезней человека / Symposium IX: Medical Genetics and Disease Modelling .....</b>	<b>730</b>
АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА TRIM21 СО СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ СУХОГО КЕРАТОКОНЬЮНКТИВИТА ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ ИЛИ БОЛЕЗНИ ШЕГРЕНА: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ.....	730
Сафонова Т.Н., Зайцева Г.В. 730	

- ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *ATP7B* В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ** ..... 731  
Алавердян Д.А., Федяков М.А., Полев Д.Е., Барбитов Ю.А., Шиков А.Е., Глотов А.С. Романова О.В., Цай В.В., Балашова М.С., Тулузановская И.Г., Иващенко Т.Э., Баранов В.С., Филимонов М.И., Жученко Н.А., Игнатова Т.М., Асанов А.И., Щербак С.Г., Сарана А.М., Уразов С.П., Макаренко С.В., Глотов О.С. 731
- ВЛИЯНИЕ МЕЛАНКОРТИНОВОГО ОЖИРЕНИЯ НА РАЗВИТИЕ ВОСПАЛЕНИЯ В ПОЧКАХ МЫШЕЙ ЛИНИИ *Ay***..... 733  
Багинская Н.В., Логвиненко Н.С. 733
- РАЗРАБОТКА ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННОЙ КЛЕТОЧНО-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА** ..... 734  
Божокин М.С., Божкова С.А. Качкин Д.В., Рубель А.А. Нащекина Ю.А. 734
- ПРОГРЕССИРУЮЩАЯ МИОКЛОНИЧЕСКАЯ ЭПИЛЕПСИЯ ТРЕТЬЕГО ТИПА: ОТ ПАЦИЕНТА ДО ИЗУЧЕНИЯ РЕГУЛЯЦИИ КАНАЛА**..... 735  
Боровиков А.О., Шарков А.А., Филатова А.Ю., Акимова И.А., Михайлова С.В., Марахонов А.В., Дадали Е.Л., Скоблов М.Ю. 735
- НОВЫЙ ПОДХОД ДЕТЕКЦИИ МУТАЦИЙ ПРИ ОРФАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ С ПОМОЩЬЮ ТАРГЕТНОГО МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ**..... 736  
Васильева О.Ю., Васильев С.А., Зарубин А.А., Скрябин Н.А. 736
- НЕЙРОТОКСИЧНОСТЬ ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ СПИННО-МОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА**..... 737  
Гараева Л.А., Штам Т.А., Камышинский Р.А., Милохина И.В., Кудреватых А.В., Гаврилов Г.В., Верлов Н.А., Е.Ю. Варфоломеева, А.В. Волницкий, С.Н. Пчелина, Емельянов А.К. 737
- ЭФФЕКТЫ ГИПЕРЭКСПРЕССИИ ГЕНА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА ЧЕЛОВЕКА НА МОДЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*** ..... 738  
Голомидов И.М., Латыпова Е.М., Большакова О.И., Тимошенко С.И., Саранцева С.В. 738
- С ЧЕМ СВЯЗАНА УСТОЙЧИВОСТЬ К РАЗВИТИЮ ОЖИРЕНИЯ У САМОК МЫШЕЙ?** ..... 739  
Гончар А.Д., Макарова Е. Н. 739
- СУЩЕСТВЕННЫЙ ВКЛАД МУТАЦИЙ ГЕНА *SLC26A4* В ЭТИОЛОГИЮ НАСЛЕДУЕМОЙ ПОТЕРИ СЛУХА У КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ ТЫВА** ..... 740  
Данильченко В.Ю., Зыцарь М.В., Маслова Е.А., Бады-Хоо М.С., Морозов И.В., Бондарь А.А., Посух О.Л. 740
- ПОЛИМОРФИЗМ rs590352 (C>G) ГЕНА *ATXN7L3B* И РИСК РАЗВИТИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА** ..... 741  
Дегтярева А.О., Леберфарб Е.Ю., Брызгалов Л.О., Брусенцов И.И., Воевода М. И Аутеншлюс А. И., Максимов В. Н., Морозов Д. В., Соколов А.В., Меркулова Т.И. 741
- ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ РЕЦЕПТОРОВ ВАЗОПРЕССИНА НА НАТРИЙУРЕТИЧЕСКУЮ ФУНКЦИЮ ПОЧЕК ПРИ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ (КРЫСЫ ЛИНИИ НИСАГ)**..... 742  
Дубинина А.Д., Иванова Л.Н. 742
- РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ МУТАЦИИ c.35delG (ГЕН *GJB2*), АССОЦИИРОВАННОЙ С ПОТЕРЕЙ СЛУХА, У НАСЕЛЕНИЯ РОССИИ И РЕКОНСТРУКЦИЯ ПРЕДКОВЫХ ГАПЛОТИПОВ. ВКЛЮЧАЮЩИХ c.35delG. В РЕГИОНАХ СИБИРИ**..... 743  
Зыцарь М.В., Балы-Хоо М.С., Ланильченко В.Ю., Бондарь А.А., Морозов И.В., Барашков Н.А., Соловьёв А.В., Максимов В.Н., Посух О.Л. 743
- РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПОДХОДОВ ОЦЕНКИ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ** ..... 744  
Кисель Э.В., Леонова Т.С., Горбач Д.П., Бабаков В.Н., Романовская Е.В., Билова Т.Е., Вессйоханн Л.А., Фролов А.А. 744

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО РАКА ПОЧКИ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК	745
Климентова Е.А., Гилязова И.Р., Измайлов А.А., Султанов И.М., Бермишева М.А., Павлов В.Н., Хуснутдинова Э.К.745	
РАЗРАБОТКА КОМПЬЮТЕРНОЙ БАЗЫ ДАННЫХ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА В ГЛИОМАХ	746
Орлов Ю.Л., Ковалев С.С., Бабенко В.Н., Леберфарб Е.Ю.746	
ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РАБОТУ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ, ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА (БП) НА МОДЕЛИ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК (ИПСК) ЧЕЛОВЕКА, ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИХСЯ В НЕЙРОНАЛЬНОМ НАПРАВЛЕНИИ	747
Ковалёва Г.В., Новосадова Е.В., Макарова И.В., Андреева Л.Е., Щербатова Н.А., Козикова Л.В., Тарантул В.З., Ненашева В.В.747	
СПЕКТР МУТАЦИЙ, ВЫЯВЛЯЕМЫХ ПРИ КЛИНИЧЕСКОМ ЭКЗОМНОМ СЕКВЕНИРОВАНИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	748
Козина А.А., Окунева Е.Г., Барышникова Н.В., Портной С.М., Красненко А.Ю., Цуканов К.Ю., Шаталов П.А., Ильинский В.В.748	
ОСОБЕННОСТИ НОВЫХ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФОРМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОК	749
Лаптев С.А., Корженевская М.А., Соколенко А.П., Иевлева А.Г., Имянитов Е.Н.749	
РАЗРАБОТКА ДРОЖЖЕВОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЙ БЕЛКА PrP	750
Лашкул В.В., Качкин Д.В., Чернов Ю.О., Рубель А.А.750	
ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ С ФРАГМЕНТИРОВАННОЙ ДНК СВЯЗЫВАТЬСЯ С БЛЕСТЯЩЕЙ ОБОЛОЧКОЙ ООЦИТА ЧЕЛОВЕКА	751
Мазилина М.А., Комарова Е.М., Мекина И.Д., Гзгзян А.М., Баранов В.С.751	
КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ НОВОГО ВАРИАНТА с.516G>С ГЕНА <i>GJB2</i> , АССОЦИИРОВАННОГО С ПОТЕРЕЙ СЛУХА У КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОЙ СИБИРИ	752
Маслова Е.А., Бады-Хоо М.С., Зыцарь М.В., Орищенко К.Е., Посух О.Л.752	
ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИЙ ЗЕБРАДАНИО, НОКАУТНЫХ ПО ГЕНАМ ТРАНСПОРТЁРОВ СЕРОТОНИНА (SLC6A4A И SLC6A4B) С ПОМОЩЬЮ НАПРАВЛЕННОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ СИСТЕМАМИ CRISPR/SpCas9 И CRISPR/LbCas12a	753
Мешалкина Д.А., Казалов М. А., Кисель Э. В., Фёдорова Я. В.753	
АНАЛИЗ РОЛИ ВАРИАНТОВ С.589DELС/STX10 И С.G3463T/NBEAL1 В ПАТОГЕНЕЗЕ РАКА ЯИЧНИКОВ	754
Мингажева Э.Т., Валова Я.В., Прокофьева Д.С., Фаисханова Р.Р. Сакаева Д.Д., Хуснутдинова Э.К.754	
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С СИНУКЛЕИНОПАТИЯМИ	755
Николаев М.А., Усенко Т.С., Безрукова А.И., Кулабухова Д.Г., Князева М.Ю., Бельцева Ю.А., Грачева Е.В., Андоскин П.А., Емельянов А.К., Милохина И.В., Пчелина С.Н.755	
ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В ИНВАЗИЮ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	756
Новиков Н.М., Денисов Е.В., Геращенко Т.С., Киселёв А.М., Крахмаль Н.В., Готро А., Чердынцева Н.В., Перельмутер В.М.756	
ГЕНЫ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ И ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННАЯ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИЯ У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ	757
Османова Д.З., Тигунцев В.В.757	
ВЛИЯНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МУТАЦИИ LETHALYELLOW В ГЕНЕ <i>AGOUTI</i> И МУТАЦИИ A53T В ГЕНЕ <i>SNCA</i> ЧЕЛОВЕКА У ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ НА МОЗГ И ПОВЕДЕНИЕ	758
Плюснина А.В., Хоцкин Н.В., Куликова Е.А., Баженова Е.Ю., Куликов А.В.758	

- ПОЛНОГЕНОМНЫЕ СКОРЫ КАК НОВЫЙ ИНСТРУМЕНТ В ОЦЕНКЕ РИСКОВ МУЛЬТИФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**.....759  
 Ракихко А.С., Попов Я.В., Низамутдинов И.И., Ильинский В.В.759
- ПРЕПАРАТ ДВУЦЕПОЧЕЧНОЙ РНК ИЗ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* КАК НОВОЕ РАДИОПРОТЕКТОРНОЕ СРЕДСТВО** .....760  
 Риттер Г.С., Николин В.П., Попова Н.А., Кисаретова П.Э., Долгова Е.В., Проскурина А.С., Поттер Е.А., Кирикович С.С., Байбородин С.И., Таранов О.С., Ефремов Я.Р., Колчанов Н.А., Богачев С.С.760
- АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В МЕТАБОЛИЗМЕ БЕТА2-АГОНИСТОВ, С РАЗВИТИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ**.....761  
 Савельева О. Н., Карунас А. С., Федорова Ю. Ю., Гималова Г. Ф., Мурзина Р. Р., Гатиятуллин Р. Ф., Эткина Э. И., Мухтарова Л. А., Загидуллин Ш. З., Хуснутдинова Э. К.761
- МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ СПЛАЙСИНГА В ГЕНЕ *ABCA4* У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ШТАРГАРДА ПАЛОЧКО-КОЛБОЧКОВОЙ ДИСТРОФИЕЙ** .....762  
 Спарбер П.А., Филатова А.Ю. Аношкин К.И., Стрельников В.В., Шеремет Н.Л., Грушкэ И.Г., Жоржоладзе Н.В. Скоблов М.Ю. 762
- АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА** .....763  
 Староватых Ю.С., Руденок М.М., Алиева А.Х., Карабанов А.В., Иллариошкин С.Н., Доронина К.С., Доронина О.Б., Росинская А.В., Сломинский П.А., Шадрин М.И.763
- ВЛИЯНИЕ АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА БЕТА НА МОРФОЛОГИЮ И ФУНКЦИИ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК *DROSOPHILA MELANOGASTER*** .....764  
 Сурина Н.В., Рябова Е.В., Жмуидина Д.Р., Саранцева С.В.764
- ЭТНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ЧАСТОТ ГЕНОВ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА СРЕДИ БУРЯТ И РУССКИХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ**.....765  
 Табиханова Л.Э., Осипова Л.П., Воронина Е.Н., Филипенко М.Л.765
- РЕКОНСТРУКЦИЯ И АНАЛИЗ ГЕННОЙ СЕТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА И ВИРУСНЫХ ПРОЦЕССОВ: ПОИСК НОВЫХ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В МЕХАНИЗМ ЗАБОЛЕВАНИЯ**.....766  
 Тийс Е.С., Иванисенко В.А.766
- АНАЛИЗ МЕЖГЕННЫХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ ПРИ РАННЕМ И ПОЗДНЕМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ В ПОПУЛЯЦИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ** .....767  
 Тимофеева С.В., Нескубина О.М., Бутенко Е.В., Шкурят Т.П.767
- ВЛИЯНИЕ ТОЧЕЧНЫХ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *SOD2* НА ПРОГНОЗ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА** .....768  
 Трофимов А.В., Трофимов В.А.768
- МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА *ALPL* В ГРУППЕ РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОВ С ПОДОЗРЕНИЕМ НА ГИПОФОСФАТАЗИЮ**.....769  
 Федяков М.А., Эйсмонт Ю.А., Иващенко Т.Э., Соснина И.Б., Снегова Е.В., Ивашикина Т.М., А.М. Сарана, С.Г. Щербак, О.С. Глотов769
- FUNCTIONAL ANALYSIS OF INTRONIC AND EXONIC SINGLE NUCLEOTIDE VARIANTS AFFECTING SPLICING IN THE *PAX6* GENE**.....770  
 Filatova A. Yu., Vasilyeva T. A., Marakhonov A. V., Voskresenskaya A. A., Zinchenko R. A., Skoblov M. Yu. 770
- MULTIPLE FETAL MALFORMATIONS CAUSED BY KIAA1109 PATHOGENIC VARIANTS** .771  
 Фрейре М., Филатова А. Ю., Лозьер Е.Р., Коновалов Ф. А., Бессонова Л. А., Юдина Е. В., Гнетецкая В. А., Канивец И. В., Коростелев С. А., Скоблов М. Ю.771
- ПОЛНОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДАННЫХ GWAS ДЛЯ СИСТЕМНОГО АНАЛИЗА КОМПЛЕКСНЫХ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ЧЕЛОВЕКА** .....772  
 Шиков А.Е., Барбитов Ю.А., Предеус А.В.772
- АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *FTO* И *PONI* С ЭКЗОГЕННО-КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ 1-2 СТЕПЕНИ У ПОДРОСТКОВ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**.....773  
 Теплякова Е.Д., Бочарова О.В., Шкурят М.А., Машкина Е.В.773

- СПЕКТР СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ ..... 774  
Щаюк А.Н., Михаленко Е.П., Малышева О.М., Шепетько М.Н., Лебецкий В.Г., Литохин В.И., академик Кильчевский А.В. 774
- ГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯХ ЭПИТЕЛИЯ БРОНХОВ, ПРЕДШЕСТВУЮЩИХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМУ РАКУ ЛЕГКОГО ..... 775  
Щеголева А.А., Денисов Е.В., Гервас П.А., Пономарева А.А., Зарубин А.А., Чердынцева Н.В., Панкова О.В., Перельмутер В.М. 775
- ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ 21 НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН И ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ПЕЧЕНИ У МЫШЕЙ С ОЖИРЕНИЕМ ЗАВИСИТ ОТ ПОЛА ..... 776  
Бажан Н.М., Яковлева Т.В., Денисова Е.И., Дубинина А.Д., Макарова Е.Н. 776
- IDENTIFICATION OF THE UNIOUE AND COMMON GENES FOR ASTHMA AND COPD: A CASE-CONTROL STUDY IN A KAZAKH POPULATION ..... 777  
Bersimbaev R.I., Akparova A.Yu., Aripova A.A. 777
- ВКЛАД ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ В РИСК РАЗВИТИЯ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ..... 778  
Джамбетова П.М., Бисултанова З.И. 778
- МОДУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ НОРАДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА ГОРМОНАМИ СТРЕССА В ОНТОГЕНЕЗЕ ..... 779  
Калинина Т.С., Сухарева Е.В., Ланшаков Д.А., Булыгина В.В., Шишкина Г.Т., Дыгало Н.Н. 779
- ПРЕНАТАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ И СОВРЕМЕННОЕ ОБЩЕСТВО ..... 780  
Кашеева Т.К. 780
- ГЕНЕТИКА И СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ МИГРЕНИ: ЧТО МЫ ЗНАЕМ СЕГОДНЯ? ..... 781  
Климов Е.А., Наумова Е.А., Кокаева З.Г., Зайцева А.И., Рудько О.И., Соболев В.В., Скоробогатых К.В., Сергеев А.В., Азимова Ю.Э. 781
- АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ПОЛИМОРФНОЙ ФОРМЫ ИНОЗИН ТРИФОСФАТ ПИРОФОСФОГИДРОЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА ПТРА-Р32Т ..... 783  
Колтовая Н.А., Душанов Э.В. 783
- АССОЦИАЦИЯ АДЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *TP53* С ДЛИТЕЛЬНОЙ ПЕРСИСТЕНЦИЕЙ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА ..... 784  
Машкина Е.В., Гарбузова О.А., Коваленко К.А., Букреева А.В. 784
- ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ ВРОЖДЕННЫХ РАСЩЕЛИН ГУБЫ И НЕБА В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ ..... 785  
Удина И.Г., Учаева В.С., Васильев Ю.А., Грачева А.С., Победоносцева Е.Ю., Гуленко О.В., Курбатова О.Л. 785
- МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ СПАСТИЧЕСКИХ ПАРАПЛЕГИЙ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН ..... 786  
Хидиятова И.М., Ахметгалеева А.Ф., Сайфуллина Е.В., Идрисова Р.Ф., Шавалиева В.В., Магжанов Р.В., Хуснутдинова Э.К. 786
- ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИОННОГО ПРОФИЛЯ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА ..... 787  
Алиева А.Х., Руденок М.М., Колачева А.А., Угюмов М.В., Сломинский П.А., Шадрин М.И. 787
- СРЕДОВЫЕ ЭФФЕКТЫ НА АССОЦИАЦИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ СИСТЕМ РЕПАРАЦИИ ДНК С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ..... 788  
Бабушкина Н.П., Постригань А.Е., Хитринская Е.Ю., Кучер А.Н. 788
- АУТОСОМНО-РЕЦЕССИВНАЯ КАТАРАКТА (СТРСТ18) В ЯКУТИИ: РЕЗУЛЬТАТЫ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ И РЕКОНСТРУКЦИЯ ГАПЛОТИПА-ОСНОВАТЕЛЯ С МУТАЦИЕЙ c.1621C>T (p.Gln541) ГЕНА *FYCO1* ..... 789  
Барашков Н.А., Коновалов Ф.А., Соловьев А.В., Терютин Ф.М., Пшенникова В.Г., Сапожникова Н.В., Вычюжина Л.С., Романов Г.П., Готовцев Н.Н., Бурцева Т.Е., Платонов Ф.А., Томский М.И., Джемилева Л.У., Хуснутдинова Э.К., Посух О.Л., Федорова С.А. 789

СПЕКТР МУТАЦИЙ В ГЕНЕ РСДН19, ВЫЯВЛЯЕМЫХ ПРИ ЭКЗОМНОМ СЕКВЕНИРОВАНИИ, И КЛИНИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ.....	790
Барышникова Н.В., Окунева Е.Г., Козина А.А., Федонюк И.Д., Красненко А.Ю., Цуканов К.Ю., Шаталов П.А., Суркова Е.И., Ильинский В.В.790	
ЕДИНООБРАЗИЕ СООТНОШЕНИЯ ТИПОВ НАРУШЕНИЙ ГЕНА <i>РАХ6</i> У БОЛЬНЫХ АНИРИДИЕЙ В РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ МИРА .....	792
Васильева Т.А., Кадышев В.В., Воскресенская А.А., Марахонов А.В., Зинченко Р.А.792	
ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ДОКСОРУБИЦИНУ ИНФИЦИРОВАННЫХ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСОМ КЛЕТОК МОНОЦИТАРНОЙ ЛЕЙКЕМИИ ТНР-1 ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИНГИБИТОРА ПОЛИАМИНОВОГО КАТАБОЛИЗМА MDL 72527 .....	793
Виноградская Г.Р., Федорова Н.Е., Чернорыж Я.Ю., Емельянова С.С., Завалишина Л.Е., Юрлов К.И., Закирова Н.Ф., Вербенко В.Н., Кочетков С.Н., Куц А.А., Иванов А.В.793	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА .....	794
Вострюхина О.А., Мирлина Е.Д., Бутрович Г.М.794	
ПОИСК МУТАЦИЙ В ГЕНАХ СУПРЕССОРОВ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА У БОЛЬНЫХ МЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН.....	795
Гималова Г.Ф., Абдуллин З.С., Низамова А.Р., Сакаева Д.Д., Хуснутдинова Э.К.795	
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ВОЗРАСТНЫХ ФАКТОРОВ РИСКА ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ЭКСТРАПИРАМИДНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ.....	796
Голоенко И.М., Обьедков В.Г., Горгун О.В., Левданский О.Д., Шимкевич А.М., Шатарнова Т.М., Давыденко О.Г.796	
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ – АДЕНОМИОЗА.....	797
Гринчук Т.М., Шилина М.А., Кожухарова И.В., Домнина А.П., Зенин В.В., Никольский Н.Н.797	
IN SILICO ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПУТЯМИ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В КЛЕТКАХ КАРЦИНОМЫ ПОЧКИ ЧЕЛОВЕКА (ЛИНИЯ А498) ....	798
Демин А.Г., Полуконова А.В., Наволокин Н.А., Полуконова Н.В.798	
МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА .....	799
Джапаридзе Л.А., Суворова О.А.799	
ТЕРАПИЯ ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА, ОСНОВАННАЯ НА ПРИНЦИПЕ ЭРАДИКАЦИИ СТВОЛОВЫХ ИНИЦИИРУЮЩИХ РАКОВЫХ КЛЕТОК .....	800
Долгова Е.В., Мишинов С.В., Ступак В.В., Завьялов Е.Л., Риттер Г.С., Кисаретова П.Э., Ефремов Я.Р., Байбородин С.И., Таранов О.С., Проскурина А.С., Поттер Е.А., Останин А.А., Черных Е.Р., Богачев С.С.800	
ГЕНЫ ДЛЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА, ВЫЯВЛЕННЫЕ С ПОМОЩЬЮ НОВЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА АССОЦИАЦИЙ .....	801
Зоркольева И.В., Белоногова Н.М., Свищева Г.Р., Кириченко А.В., Аксенович Т.И.801	
GROUP SPECIFIC MAF В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО РАКА.....	802
Долгова Е.В., Кирикович С.С., Левитес Е.В., Проскурина А.С., Риттер Г.С., Таранов О.С., Астрейка М.Ю., Останин А.А., Леплина О.Ю., Черных Е.Р., Богачев С.С.802	
SEX RATIO IN EPIDEMIOLOGY OF HUMAN CHROMOSOME ABNORMALITIES: AN UNDERAPPRECIATED TOOL FOR RECOGNITION AND EXAMINATION OF PATHOLOGIC PROCESSES, AND RISKS PREDICTION .....	803
Kovaleva N.V.803	
ПОЛИМОРФИЗМ rs590352 (C>G) ГЕНА <i>ATXN7L3B</i> И РИСК РАЗВИТИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА .....	804
Дегтярева А.О., Леберфарб Е.Ю., Брызгалов Л.О., Брусенцов И.И., Воевода М. И Аутеншлюс А. И., Максимов В. Н., Морозов Д. В., Соколов А.В., Меркулова Т.И.804	
МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЦИТОГЕНЕТИКИ В ОПИСАНИИ КАРИОТИПИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ.....	805
Лемская Н.А., Романенко С.А., Дольский А.А., Прокопов Д.Ю., Шорина А.Р., Максимова Ю.В.805	

ВЛИЯНИЕ ПОЛА НА МИНЕРАЛОКОРТИКОИДНУЮ АКТИВНОСТЬ ПРИ МЕЛАНКОРТИНОВОМ ТИПЕ ОЖИРЕНИЯ У МЫШЕЙ Ау. ....	806
Логвиненко Н.С., Каткова Л.Е., Батурина Г.С., Багинская Н.В.806	
АНТИДИАБЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР FGF21 ПО-РАЗНОМУ ВЛИЯЕТ НА ПОТРЕБЛЕНИЕ ПИЩИ И УГЛЕВОДНО-ЖИРОВОЙ ОБМЕН У САМЦОВ И САМОК МЫШЕЙ С ГЕНЕТИЧЕСКИМ МЕЛАНКОРТИНОВЫМ ОЖИРЕНИЕМ.....	807
Макарова Е.Н., Балыбина Н.Ю., Дубинина А.Д, Денисова Е.И., Яковлева Т.В., Бажан Н.М.807	
ИЗУЧЕНИЕ «АКТИВНОГО ДОЛОГОЛЕТИЯ» У ЖИТЕЛЕЙ АБХАЗИИ.....	808
Матуа А.З., Ахуба Л.О., Трапш Х.З, Викторова Т.В., Эрдман В.В., Амаба С.Т., Горухчиева Ф.А., Каландия Т.З., Григорьев М.В., Джидарян А.А., Кубрава Д.Т., Шевцова З.В., Баркая В.С., Елистратова Ж.В., Алексян А.А., Дობаджян Н.В, Конджария И.Г., Миквабия З.Я.808	
ИССЛЕДОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 1 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПСОРИАЗА .....	809
Мезенцев А.В. , Могулевцева Ю.А., Брусскин С.А., Пирузян Э.С. 809	
ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА NGS (КЛИНИЧЕСКИЙ ЭКЗОМ) ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ФЕНОТИПИЧЕСКИ ВАРИАБЕЛЬНЫХ ПАТОГЕННЫХ ВАРИАНТОВ В ГЕНЕ MPZ.....	810
Окунева Е.Г., Барышникова Н.В., Козина А.А., Красненко А.Ю., Климчук О.И. Суркова Е.И., Ильинский В.В.810	
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВОГО ИНГИБИТОРА ТИРОЗИЛ-ДНК-ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 1 НА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ТОПОТЕКАНА В ОТНОШЕНИИ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЕЙ МЫШЕЙ <i>IN VIVO</i> .....	812
Попова Н.А. , Каледин В.И., Лузина О.А., Захаренко А.Л., Николин В.П., Салахутдинов Н.Ф., Лаврик О.И.812	
ИТОГИ МНОГОЛЕТНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ГЛУХОТЫ У КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ СИБИРИ: ОТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ДО МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ. КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ .....	813
Посух О.Л. Барашков Н.А.. Зыпарь М.В.. Балы-Хоо М.С.. Ланильченко В.Ю.. Маслова Е.А.. Ппенникова В.Г.. Романов Г.П.. Соловьёв А.В.. Кларов Л.А., Федорова С.А., Терютин Ф.М., Лашин С.А., Орищенко К.Е., Морозов И.В., Бондарь А.А.813	
РЕЗУЛЬТАТЫ II ФАЗЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ НОВОГО БИФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ПАНАГЕН, ОБЛАДАЮЩЕГО ЛЕЙКОПРОТЕКТОРНЫМ И ПРОТИВОРАКОВЫМ ДЕЙСТВИЕМ .....	814
Проскурина А.С., Гвоздева Т.С., Поттер Е.А., Долгова Е.В., Леплина О.Ю., Останин А.А., Черных Е.Р., Рябичева Т.Г., Вараксин Н.А., Пономаренко Д.М., Дворниченко В.В., Сидоров С.В., Баклаушев В.П., Пономарев А.В., Богачев С.С.814	
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ДОФАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ И ГЕНОВ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ГИППОКАМПЕ У КРЫС С ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КАТАТОНИЕЙ.....	815
Рязанова М.А , Плеканчук В.С., Латышева Т.В., Алехина Т.А., Прокудина О И.815	
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ ИМПРИНТИРОВАННЫХ ГЕНОВ ПРИ ПАТОЛОГИИ РАННИХ ЭТАПОВ ОНТОГЕНЕЗА ЧЕЛОВЕКА.....	816
Саженова Е.А. , Никитина Т.В., Толмачева Е.Н., Лебедев И.Н.816	
ГЕНОДИАГНОСТИКА ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ.....	817
Салахов Р.Р. Голубенко М.В., Зарубин А.А. Глотов О.С. Алавердян Д.А., Павлюкова Е.Н., Канев А.Ф., Назаренко М.С., Пузырев В.П.817	
ОБОБЩЕННАЯ РЕГРЕССИОННАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ПОИСКА ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРИЗНАКАМИ ЧЕЛОВЕКА, НА ОСНОВЕ СУММАРНЫХ СТАТИСТИК.....	818
Свищёва Г.Р. , Белоногова Н.М. , Аксенович Т.И.818	
ПСИХОДЕРМАТОЛОГИЯ: ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОБЩНОСТЬ ПСОРИАЗА И ПАНИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ.....	819
Соболев В.В., Корсунская И.М., Соболева А.Г., Третьяков А.В., Климов Е.А.819	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ .....	820
Тарасенко Н.В., , Спирина Л.В., Горбунов А.К., Усынин Е.А.820	

- АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ КЛЮЧЕВЫХ БЕЛКОВ-ИНДУКТОРОВ T<sub>H</sub>1-АДАПТИВНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА КАК БИОМАРКЕРЫ ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА ЛЕГКИХ..... 821  
Тараскина А.Е., Фролова Е.В., Шадринова О.В., Филиппова Л.В., Учеваткина А.Е., Климко Н.Н., Васильева Н.В.821
- ЧАСТОТА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С АНТРАЦИКЛИН-ОПОСРЕДОВАННОЙ КАРДИОТОКСИЧНОСТЬЮ, У ПАЦИЕНТОК С ОНКОПАТОЛОГИЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ..... 822  
Тимошкина Н.Н., Гвалдин Д.Ю., Ратиева А.С., Ващенко Л.Н., Омельчук Е.П.822
- АНОМАЛИИ ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ ПРИ НАРУШЕНИЯХ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА ..... 823  
Толмачева Е. Н., Фонова Е. А., Скрябин Н. А., Кашеварова А. А., Павлова К. А., Затула Л. А., Лебедев И. Н.823
- СВЯЗЬ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *NOS2* С РАЗВИТИЕМ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ (I-II СТАДИИ)..... 824  
Топчиева Л.В., Балан О.В., Корнева В.А., Курбатова И.В., Мальшева И.Е., Панкратова К.А.824
- ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДАМИ У БОЛЬНЫХ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ..... 825  
Федорова Ю.Ю., Карунас А.С., Савельева О.Н, Гималова Г.Ф., Мурзина Р.Р., Гатиятуллин Р.Ф., Эткина Э.И., Мухтарова Л.А., Загидуллин Ш.З., Хуснутдинова Э.К.825
- АНАЛИЗ СПЕКТРА МУТАЦИЙ И ПОИСК НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ ИЗ РОССИИ ..... 826  
Филатова Е.В. , Шадрина М.И., Крылова Н.С, Дёмкина А.Е., Сломинский П.А.826
- МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ «ПОРТРЕТ» ПНЕВМОНИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОМНОГО И ТРАНСКРИПТОМНОГО ПОДХОДОВ..... 827  
Хаджиева М.Б., Сальникова Л.Е.827
- АНАЛИЗ ГЕНОВ ДЕТОКСИКАЦИИ И РЕПАРАЦИИ ДНК У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ДЕФОРМАЦИЯМИ ПОЗВОНОЧНИКА КАК КРИТЕРИЙ ХАРАКТЕРА ТЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗА ЗАБОЛЕВАНИЯ ..... 828  
Хальчицкий С.Е., Согоян М.В., Виссарионов С.В., Баиндурашвили А.Г.828
- INSIGHT INTO THE GENETIC ARCHITECTURE OF BACK PAIN FROM LARGE GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY ..... 829  
Tsepilov Y. A , Freidin M.B , Palmer M. , Karssen L. C , Suri P. , Y. S Aulchenko , F. Williams MK829
- СПИРАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ МУТАЦИОННЫХ ЗАМЕН КОДОНОВ И АМИНОКИСЛОТ ..... 830  
Чарикова Е.В.830
- HLA-Cw 06:02 ЗАВИСИМАЯ ПРОЛИФЕРАЦИЯ Т КЛЕТОК БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ НА СОБСТВЕННЫЙ БЕЛОК КЕРАТИН 17 ..... 831  
Юнусбаева М.М., Билалов Ф.С., Юнусбаев Б.Б.831
- ВЛИЯНИЕ ГОНАДЭКТОМИИ И ЭКЗОГЕННОГО ЭСТРАДИОЛА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРАДИОЛА ТИПА АЛЬФА И БЕТА В ПЕЧЕНИ У САМЦОВ И САМОК МЫШЕЙ..... 832  
Яковлева Т.В.832
- АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ДОФАМИНОВОЙ НЕЙРОТРАНСМИССИИ И ГЕНА *PTEN5* С ШИЗОФРЕНИЕЙ..... 833  
Пожидаев И.В., Османова Д.З. , Бойко А.С., Вялова Н.М., Корнетова Е.Г., Иванова С.А.833
- ВЛИЯНИЕ МАТЕРИНСКОГО ЛЕПТИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ В ПЕЧЕНИ И МОЗГЕ ПЛОДОВ РАЗНОГО ПОЛА У МЫШЕЙ ..... 835  
Денисова Е.И., Макарова Е.Н.835
- ПОИСК И АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ПЕПТИДЕ АВЕТА-42 ЧЕЛОВЕКА, ВЛИЯЮЩИХ НА НУКЛЕАЦИЮ АМИЛОИДА ..... 836  
Маликова О.А., Зобнина А.Е., Чернов Ю.О., Рубель А.А.836

МОДЕЛИРОВАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА НА ЛИНИЯХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА.....	837
Малахова А.А., Маланханова Т.Б., Григорьева Е.В., Сульдина Л.А., Морозова К.Н., Киселева Е.В., Закиян С.М.837	
<b>Симпозиум X: Селекция и биотехнология растений / Symposium X: Plant Biotechnology and Breeding</b> .....	838
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ДАГЕСТАНСКОЙ ОПЫТНОЙ СТАНЦИИ ВИР ПО РЕЗУЛЬТАТАМ МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО АНАЛИЗА .....	838
Агаханов М. М., Волков В. А., Кислин Е.Н.838	
СОЗДАНИЕ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ РИСА .....	839
Аксенов А.В., Костылев П.И., Краснова Е.В.839	
ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ И СТАБИЛЬНОСТИ СОРТОВ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ МЕЖСТАНЦИОННОГО СОРТОИСПЫТАНИЯ .....	840
Брагин Р.Н. Филиппов Е.Г. Донцова А.А.840	
НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ – ПРОДУЦЕНТОВ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА БЫКА .....	841
Бурлаковский М.С., Емельянов В.В., Савельева Н.В., Носова К.И., Лутова Л.А.841	
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛОКУСОВ, СВЯЗАННЫХ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ КАРТОФЕЛЬНОГО КРАХМАЛА К ГИДРОЛИЗУ ФЕРМЕНТОМ А-АМИЛАЗОЙ .....	842
Гвоздева Л.М., Розанова И.В., Хлесткин В.К., Хлесткина Е.К.842	
ОБОГАЩЕНИЕ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ АНТОЦИАНАМИ ЗА СЧЕТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НОВЫХ ФОРМ ПШЕНИЦЫ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ АНТОЦИАНОВ.....	843
Гордеева Е.И., Генералова Г.В., Н.И. Усенко, О.И. Стабровская, И.Б Шарфунова, Ю.С. Отмахова, Хлесткина Е.К.843	
ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ЛОКУСА <i>Vlp</i> , КОНТРОЛИРУЮЩЕГО ФОРМИРОВАНИЕ ПРИЗНАКА ЧЁРНОЙ ОКРАСКИ КОЛОСА ЯЧМЕНЯ ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) .....	844
Глаголева А.Ю., Шмаков Н.А., Мурсалимов С.Р., Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю.844	
СОЗДАНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ЛЮЦЕРНЫ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ЗЕЛЕННОЙ МАССЫ И СЕМЯН.....	845
Горюнов К.Н., Игнатъев С.А., Регидин А.А.845	
ASSESSMENT OF THE GENETIC DIVERSITY OF BARLEY LANDRACES MAINTAINED IN THE VAVILOV INSTITUTE OF PLANT GENETIC RESOURCES (VIR) IN THE WORLD SCALE .....	846
Grigoreva E., Kale S., Stein N., Kovaleva O., Loskutov I., Potokina E.846	
ЗАВИСИМОСТЬ УРОЖАЙНОСТИ ОТ РАЗМЕРА ФЛАГОВЫХ ЛИСТЬЕВ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ СЕЛЕКЦИИ «АНЦ «ДОНСКОЙ» .....	847
Громова С.Н.847	
РОЛЬ МАЛЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ СЕМЕЙСТВА RALFL ПРИ ИНИЦИАЦИИ БОКОВОГО КОРНЯ В МЕРИСТЕМЕ РОДИТЕЛЬСКОГО У ТЫКВЕННЫХ .....	848
Гусева Е.Д., Ильина Е.Л., Кирюшкин А.С., Демченко К.Н.848	
СЕЛЕКЦИЯ САДОВЫХ КУЛЬТУР В ГБУ СО НИИ «ЖИГУЛЕВСКИЕ САДЫ».....	849
Деменина Л.Г.849	
ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ СЕМЬИ КРАСНОЙ СМОРОДИНЫ ( <i>RIBES RUBRUM</i> L.) БЕЛАЯ ПОТАПЕНКО × 1426-21-80.....	850
Должикова М.А., Пикунова А.В., Калинина О. В.850	
ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ, ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ И ОСОБЕННОСТЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ РАЗВИТИЕ ЛИГУЛЬНОГО РАЙОНА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ТРИБЫ TRITICEAE.....	851
Дресвянникова А.Е., Ватанабе Н. , Мутерко А.Ф., Красников А.А. , Гончаров Н.П., Добровольская О.Б. 851	

- РОЛЬ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ СИНТЕЗ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, В СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ЯЧМЕНЯ И ПШЕНИЦЫ: ИССЛЕДОВАНИЯ НА МОДЕЛЯХ ПОЧТИ-ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ ..... 852  
Глаголева А.Ю., Гордеева Е.И., Захарова О.В., Юдина Р.С., Шоева О.Ю., Хлесткина Е.К.852
- РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО ФЕНОТИПИРОВАНИЯ РАСТЕНИЙ ДИКИХ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ..... 853  
Иванова К.А., Комышев Е.Г., Генаев М.А., Колошина К.А., Эрст Т.В., Егорова А.В., Дорошков А.В., Чалая Н.А. Рогозина Е.В., Ибрагимова С.С., Афонников Д.А., Кочетов А.В., Герасимова С.В.853
- РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ НА ГЕНЫ УСТОЙЧИВОСТИ К РАСАМ 336 И 777 РЖАВЧИНЫ ПОДСОЛНЕЧНИКА (*PUCCINIA HELIANTHI* SCHWEIN.) ..... 854  
Исаев Д.А. , Соловьев А.А. , Сыксин С.В.854
- ИЗУЧЕНИЕ СОРТОВ И ЛИНИЙ ОЗИМОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ КОНКУРСНОГО СОРТОИСПЫТАНИЯ В «АНЦ «ДОНСКОЙ» ..... 855  
Каменева А.С.855
- ТЕХНОЛОГИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРОТОПЛАСТОВ КАРТОФЕЛЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СОРТОВ ДЛЯ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ ..... 856  
Коновалова Л.Н., Стрельникова С.Р., Комахин Р.А.856
- ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГЕНЕРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА СОРТОВ ЯЧМЕНЯ..... 857  
Короткова А.М. , Герасимова С.В. , Кукоева Т.В., Хлесткина Е.К.857
- ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ АССОЦИИИ *IN VITRO* МИКРОРАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ С БАКТЕРИЯМИ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* ..... 858  
Костина Е.Е., Каргаполова К.Ю., Бурыгин Г.Л., Ткаченко О.В.858
- СЕМЕЙСТВЕННЫЕ ЛЕСОСЕМЕННЫЕ ПЛАНТАЦИИ (ЛСП) КАК ОБЪЕКТЫ СЕЛЕКЦИОННОГО СЕМЕНОВОДСТВА И СОХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДА ДУБА..... 859  
Крюкова С.А.859
- РОЛЬ ПЕПТИДОВ СЛЕ В РАЗВИТИИ ЗАПАСАЮЩИХ КОРНЕЙ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ..... 860  
Кузнецова К.А., Додуева И.Е., Ганчева М.С., Лутова Л.А.860
- МАРКЕР-КОНТРОЛИРУЕМОЕ ПОЛУЧЕНИЕ ФОРМ ЯЧМЕНЯ С АНТОЦИАНОВОЙ ОКРАСКОЙ ЗЕРНА..... 861  
Кукоева Т.В., Генералова Г.В., Стрыгина К.В., Григорьев Ю.Н., Яковлев М.А., Глаголева А.Ю., Хлесткина Е.К.861
- ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *RIBES NIGRUM L.* (*GROSSULARIACEAE*) ..... 862  
Лебедев А.А.862
- СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗ ЯЧМЕНЯ (*Hordeum vulgare L.*) В КОНТЕКСТЕ ФОРМИРОВАНИЯ ПРИЗНАКА ЧЕРНОЙ ПИГМЕНТАЦИИ КОЛОСА ..... 863  
Леванова Н.М., Глаголева А.Ю., Кукоева Т.В., Хлесткина Е.К., Шоева О.Ю.863
- ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР LBD16 В ИНИЦИАЦИИ ПРИМОРДИЯ БОКОВОГО КОРНЯ КАБАЧКА (*CUCURBITA PEPO*)..... 864  
Островерхова М.Г., Ильина Е.Л., Кирюшкин А.С., Демченко К.Н.864
- ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *CLV1* И *TDR* У КАРТОФЕЛЯ ..... 865  
Полюшкевич Л.О. , Ганчева М.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А.865
- ГЕНЫ *MtNF-YB* СОМАТИЧЕСКОМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ У *MEDICAGO TRUNCATULA* ..... 866  
Поценковская Э.А. , Творогова В.Е., Лутова Л.А.866
- БАКТЕРИИ РОДА *BACILLUS* В ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ, КАРТОФЕЛЯ И ТОМАТОВ ОТ НАСЕКОМЫХ - ПЕРЕНОСЧИКОВ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ. .... 867  
Румянцев С.Д., Веселова С.В., Бурханова Г.Ф., Алексеев В.Ю., Максимов И.В.867
- ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТРАНЛОКАЦИЙ ОТ *AEGILOPS SPELTOIDES* TAUSCH НА ЗИМОСТОЙКОСТЬ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ЛИСТОВОЙ РЖАВЧИНЕ У ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ..... 868  
Стасюк А.И., Леонова И.Н., Салина Е.А.868

ОЦЕНКА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ ОБРАБОТКЕ ПРОРОСТКОВ ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО ИЗОЛЯТАМИ <i>FUSARIUM</i> .....	869
Сысолятин Е.Н., Анисимова Н.А., Анохина В.С., Кильчевский А.В.869	
SOURCES OF THE HIGH MOLECULAR WEIGHT GLUTENIN SUBUNIT ALLELES RELATED TO GOOD BREAD-MAKING QUALITY IN EUROPEAN SPRING AND WINTER WHEAT CULTIVARS.....	870
Tikhonova M.A. , Ingver A., Koppel R.870	
ПРОВЕДЕНИЕ ПОЛНОГЕНОМНОГО ПОИСКА АССОЦИАЦИЙ МЕЖДУ МОЛЕКУЛЯРНЫМИ МАРКЕРАМИ И ИЗМЕНЧИВОСТЬЮ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ НОВОЙ БОБОВОЙ КУЛЬТУРЫ – ГУАРА ( <i>Cyamopsis tetragonoloba</i> (L.) Taub.).....	871
Ульянич П.С., Григорьева Е.А., Rabanus-Wallace M. Timothy , Потокина Е.К.871	
ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ГОРОХА В СЕЛЕКЦИИ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ .....	872
Хабибуллин К.Н., Ашиев А.Р.872	
АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА КЛТ-ДНК У <i>N. TABACUM</i> .....	873
Хафизова Г.В., Матвеева Т.В.873	
СОВМЕСТНОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ DDW1 И VRN-A1 В ГЕНОМЕ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ В УСЛОВИЯХ ПОЛЕВОГО ОПЫТА .....	874
Черноок А.Г., Крупин П.Ю., Карлов Г.И., Дивашук М.Г.874	
КОРМОВАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУДАНСКОЙ ТРАВЫ .....	875
Шишова Е.А.875	
ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТИЧНОГО АЛЬБИНИЗМА ЯЧМЕНЯ С ПОЗИЦИИ ТРАНСКРИПТОМИКИ.....	876
Шмаков Н. А., Глаголева А.Ю., Афонников Д.А., Хлесткина Е.К.876	
ВЫЯВЛЕНИЕ ЛНК-МАРКЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С МОРФОЛОГИЕЙ ГРАНУЛ КРАХМАЛА В КОЛЛЕКЦИИ КАРТОФЕЛЯ <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> L. ....	877
Эрт Т.В., Розанова И.В., Хлесткин ВК., Хлесткина ЕК.877	
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКА VPГ ВИРУСА Y С БЕЛКАМИ СЕМЕЙСТВА 4E ТАБАКА.....	878
Юрина А.Д., Лебедева М.В., Злобин Н.Е., Бабаков А.В., Таранов В.В.878	
GENE CLONING WITHIN <i>TRITICUM MILITINAE</i> REGION INTROGRESSED IN TO LARGE AND COMPLEX GENOME OF WHEAT .....	879
Janáková E. , Jakobson I. , Peusha H. , Abrouk M., Škopová M. , Timofejeva L. , H.Šimková , J. Šafář , J.Vrána , J.Doležel , K. Järve , M.Valárik 879	
MARKER-TRAIT ASSOCIATIONS IN SPRING WHEAT GENETIC PANELS STUDIED IN KAZAKHSTAN .....	880
Turuspekov Y., Amalova A., Genievskaia Y., Abdikhalyk A., Babkenov A., Rsaliyev A., Abugalieva S.880	
ПОИСК ИСТОЧНИКОВ УСТОЙЧИВОСТИ К Y-ВИРУСУ КАРТОФЕЛЯ СРЕДИ ОБРАЗЦОВ <i>SOLANUM CHACOENSE</i> В КОЛЛЕКЦИИ ВИР .....	881
Юркина Е.Н. ,Рогозина Е.В.881	
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ФУЗАРИОЗУ КОЛОСА У СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ, СОЗДАННЫХ В НАЦИОНАЛЬНОМ ЦЕНТРЕ ЗЕРНА ИМ. П.П. ЛУКЪЯНЕНКО .....	882
Аблова И.Б., Тархов, А.С., Беспалова Л.А., Боровик А.Н.882	
ASSESSMENT OF THE PHENOTYPIC AND GENETIC DIVERSITY OF DURUM WHEAT COLLECTION ( <i>TRITICUM DURUM</i> DESF.).....	883
Anuarbek S., Abugalieva S. , Tuberosa R. , Turuspekov Y.883	
СЕЛЕКЦИЯ ТРИТИКАЛЕ СФЕРОКОККУМ ( <i>TRITICALE SPHAEROCOCCUM</i> ) ХЛЕБОПЕКАРНОГО НАПРАВЛЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ.....	884
Боровик А.Н., Беспалова Л.А., Мирошниченко Т.Ю.884	
ВЫБОР ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ДЛЯ МУТАЦИЙ БЕЗАНТОЦИАНОВОСТИ У РЖИ НА ОСНОВЕ СРАВНИТЕЛЬНОГО КАРТИРОВАНИЯ .....	885
Войлоков А.В., Цветкова Н.В., Хакаф Б.885	

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ФОРМИРОВАНИЯ УРОЖАЯ ЧЕРЕШНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ МНОГОМЕРНОЙ СТАТИСТИКИ .....	886
Каньшина М.В., Мисникова Н.В., Астахов А.А.886	
ЛОМЕСТИКАЦИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ ПЕРСПЕКТИВНЫХ КАУЧУКОНОСОВ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН .....	887
Кулуев Б.Р., Князев А.В., Фатерыга А.В., Мулдашев А.А., Чемерис А.В.887	
ПОИСК НОВЫХ ИСТОЧНИКОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ЛИСТОСТЕБЕЛЬНЫМ ИНФЕКЦИЯМ В КОЛЛЕКЦИИ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ( <i>T. AESTIVUM</i> L.) С ГЕНЕТИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛОМ ТРИБЫ TRITICEAE .....	888
Леонова И.Н. , Орлова Е.А. , Сколотнева Е.С. , Орловская О.А. 888	
ЗАМЕЩЕНИЕ ЦИТОПЛАЗМЫ – СТРАТЕГИЯ К УВЕЛИЧЕНИЮ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ .....	889
Першина Л.А., Трубочеева Н.В., Осадчая Т.С., Белова Л.И., Кравцова Л.А., Белан И.А., Росеева Л.П.889	
ГОМОЛОГИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ БОЛЕЗНЕЙ У ДИКОРАСТУЩИХ И КУЛЬТУРНЫХ ФОРМ КАРТОФЕЛЯ .....	890
Рогозина Е.В., Бекетова М.П., Фадинова О.А., Кузнецова М.А., Хавкин Э.Е.890	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ РОДА <i>POPULUS</i> L. В ЦЕНТРАЛЬНОМ ЧЕРНОЗЕМЬЕ .....	891
Царев А.П.891	
ЮВЕНИЛИЗАЦИЯ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ГЕНОТИПОВ ТОПОЛЕЙ И ИХ РЕПРОДУКТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ В ЦЧР .....	892
Царев В.А.892	
ОПТИМИЗАЦИЯ ГАПЛОИДНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ ТРИТИКАЛЕ .....	893
Акинина В.Н., Хомякова О.В., Дьячук Т.И., Поминов А.В., Кибкало И.А.893	
ЛОКАЛИЗАЦИЯ И СОСТАВ АНТОЦИАНОВ В ЗЕРНОВКАХ РЖИ С РАЗНОЙ ОКРАСКОЙ .....	894
Андреева Е.А., Зыкин П.А., Лыхолой А.Н., Войлоков А.В.894	
НАПРАВЛЕНИЯ СЕЛЕКЦИИ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ДЛЯ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ .....	895
Белан И.А., Росеева Л.П., Блохина Н.П., Немченко В.В., Абакумов С.Н., Кадиков Р.К., Трубочеева Н.В., Осадчая Т.С., Першина Л.А.895	
АНТОЦИАНОВЫЕ ФОРМЫ КУКУРУЗЫ КАК ИСТОЧНИК ПОЛУЧЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И НАТУРАЛЬНОГО КРАСИТЕЛЯ .....	896
Беляченко Ю.А., Полуконова Н.В., Тырнов В.С., Наволокин Н.А., Кондратьева К.Р., Барбарян А.М., Рогожин В.В., Смолькина Ю.В., Пархоменко А.С., Дурнова Н.А., Усанов Д.А.896	
БИОТЕХНОЛОГИЯ <i>in vitro</i> ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СОРТОВЫХ СЕМЯН <i>Alnus</i> и <i>Betula</i> НА ЛСП .....	897
Благодарова Т.А., Сиволапов В.А. Сиволапов А.И.897	
ФОРМИРОВАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ МИСКАНТУСА В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ .....	898
Бурмакина Н.В., Банникова С.В., Демидов Е.А., Мещерякова И.А., Розанов А.С., Слынько Н.М., Старостин К.В., Шеховцов С.В., Пельтек С.Е.898	
РОЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ SNN3/TOX3 В РАЗВИТИИ РЕАКЦИИ СОВМЕСТИМОСТИ С УЧАСТИЕМ ЭТИЛЕНА В ПАТОСИСТЕМЕ <i>TRITICUM SP. - STAGONOSPORA NODORUM</i> .....	899
Бурханова Г.Ф., Веселова С.В., Нужная Т.В.899	
ИССЛЕДОВАНИЕ КАЧЕСТВА ДРЕВЕСИНЫ РАЗЛИЧНЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ФОРМ ТОПОЛЯ И ОСИНЫ С ИЗМЕНЕНИЕМ ВОЗРАСТА ДЕРЕВА .....	900
Вариводин В.А., Вариводина И.Н., Машкина О.С.900	
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТОМАТОВ, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ <i>RAPAI</i> , И <i>PSEUDOMONAS SP.</i> 102 КАК ЭФФЕКТИВНАЯ СИМБИОТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ.....	901
Вершинина З. Р., Хакимова Л. Р., Лавина А. М., Каримова Л. Р., Федяев В.В., Баймиев Ан. Х., Баймиев Ал. Х.901	
ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ ВОСПРИИМЧИВОСТИ <i>SNN</i> И ГЕНОВ ЭФФЕКТОРОВ <i>TOX</i> В ПАТОСИСТЕМЕ <i>TRITICUM AESTIVUM - STAGONOSPORA NODORUM</i> .....	902
Веселова С.В., Бурханова Г.Ф., Нужная Т.В.902	

- АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИЕЙ РАЗВИТИЯ ЗАРОДЫША, У ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ КУКУРУЗЫ..... 903  
Волохина И.В., Моисеева Е.М., Гуторова О.В., Гусев Ю.С., М.И. Чумаков 903
- СОЗДАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ АНТОЦИАНОВ В ЗЕРНЕ ..... 904  
Гордеева Е.И., Генералова Г.В., Щукина Л.В., Юдина Р.С., Шоева О.Ю., Хлесткина Е.К. 904
- СЕЛЕКЦИЯ ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ЛАНДШАФТНОГО ДИЗАЙНА Г.БАКУ ... 905  
Мамедов Т.С., Гюльмамедова Ш.А. 905
- СОЗДАНИЕ ЦЕННОГО ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ MAS..... 907  
Давоян Э.Р., Беспалова Л.А., Давоян Р.О., Болдаков Д.М., Зубанова Ю.С., Миков Д.С., Агаева Е.В., Филобок В.А. 907
- РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА GATA23 И МЕМБРАННО-СВЯЗАННОГО КИНАЗНОГО РЕГУЛЯТОРА МАКР4 В ИНИЦИАЦИИ БОКОВОГО КОРНЯ У ТЫКВЕННЫХ ..... 908  
Демченко К.Н. , Кирюшкин А.С., Ильина Е.Л., Пучкова В.А. 908
- ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АРХИТЕКТУРЫ СОЦВЕТИЯ ПШЕНИЦЫ ..... 909  
Добровольская О.Б., Дресвянникова А.Е., Володина Е.А., Красников А.А., Ю.Л. Орлов, Н. Ватанабэ, П. Мартинек 909
- СЕЛЕКЦИЯ ПЕРЦА СЛАДКОГО ДЛЯ ПЛЕНОЧНЫХ ТЕПЛИЦ ..... 910  
Добродькин М. М., Пугачёва И. Г., Моисеева М. О., Невестенко Н. А., Никонович Т. В., Добродькин А. М., Никитинская Т. В., Бабак О.Г., Кильчевский А.В. 910
- РОЛЬ ГЕНОФОНДА ВИР В РЕШЕНИИ ПРИОРИТЕТНЫХ ЗАДАЧ СЕЛЕКЦИИ ЛЮПИНА БЕЛОГО ..... 911  
Захарова М.В. , Лукашевич М.И. 911
- СЕЛЕКЦИЯ ГИБРИДОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ КУЛЬТУРЫ ИЗОЛИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ..... 912  
Колесникова Е.О., Бердников Р.В. 912
- ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ КОЛЛЕКЦИИ РИСА..... 913  
Краснова Е.В., Костылев П.И., Аксенов А.В. 913
- ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОМАКЛОНАЛЬНОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ В СЕЛЕКЦИИ НУТА (*CICER ARIETINUM L.*) ДЛЯ УСЛОВИЙ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ ..... 914  
Кузьмина С.П., Казыдуб Н.Г., Балачий В.В. 914
- ВЛИЯНИЕ ФИТОТОКСИНОВ НА РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* ..... 915  
Куликович Е.Н., Ермоленко Н.Л., Кадырова М.В. 915
- ПОИСК МИШЕНЕЙ TAL-ЭФФЕКТОРОВ *XANTHOMONAS CAMPESTRIS PV. CAMPESTRIS* В ГЕНОМЕ *BRASSICA OLERACEA* ..... 916  
Лебедева М.В., Злобин Н.Е. 916
- ВЛИЯНИЕ ЯДЕРНОГО ГЕНОМА НА ТРАНСКРИПЦИЮ ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА *HELIANTHUS ANNUUS* ..... 917  
Маркин Н.В., Колоколова Н.С., Ковалевич А.А., Кан К.Ф., Хачумов В.А., Макаренко М.С., Усатов А.В. 917
- ГЕНОФОНД РЕСУРСОВ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР БЕЛАРУСИ И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИИ ..... 918  
Привалов Ф.И., Гриб С.И., Матыс И.С. 918
- МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРЕССА В КУЛЬТУРЕ *in vitro* И ОТБОР УСТОЙЧИВЫХ РАСТЕНИЙ БЕРЕЗЫ, ТОПОЛЯ И ОСИНЫ ..... 919  
Табацкая Т.М., Аминева Е.Ю., Машкина О.С. 919
- ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА НА МОРФОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ..... 920  
Милехин А.В., Бакунов А.Л., Рубцов С.Л. 920

ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ ВИНОГРАДА, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ РАЗЛИЧНОМ СВЕТОДИОДНОМ ОСВЕЩЕНИИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* И *EX VITRO* 921  
Никонович Т.В., Колмаков П.Ю. 921

ИСТОЧНИКИ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ В СЕЛЕКЦИИ ТРИТИКАЛЕ НЦЗ ИМ.П.П. ЛУКЪЯНЕНКО..... 922  
Ковтуненко В.Я., Панченко В.В., Калмыш А.П. 922

ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКРОГАМЕТОФИТНОГО ОТБОРА В СЕЛЕКЦИИ ТОМАТА *SOLANUM LICOPERSICUM L.* НА СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ..... 923  
Пугачёва И. Г., Зайцева И. Е., Лещина Н. Ю., Кильчевский А.В. 923

ИННОВАЦИОННЫЙ МОДУЛЬ ПО ПРОИЗВОДСТВУ СЕМЯН КАРТОФЕЛЯ..... 924  
Рубцов С.Л. 924

ТОПОЛЬ СЕРЕЮЩИЙ (*Populus canescens Sm.*) – МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ГЕНЕТИКО-СЕЛЕКЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОРЫВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ..... 925  
Сиволапов А.И. 925

ИНДУКЦИЯ КРОССИНГОВЕРА У МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ТОМАТОВ ..... 926  
Стрельникова С.Р., Комахин Р.А. 926

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ВОЗДЕЛЫВАЕМЫХ В БЕЛАРУСИ СОРТОВ ОВСА ПОСЕВНОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ SSR-МАРКЕРОВ..... 927  
Сычева Е.А., Дробот Н.И., Дубовец Н.И. 927

CHANGING OF MORPHOPHYSIOLOGICAL INDICATORS OF WHEAT VARIETIES DIFFERED BY MATURITY PERIOD IN DROUGHT CONDITIONS ..... 928  
Tamraz Hajiali oglu Tamrazov 928

СТРАТЕГИЯ СОЗДАНИЯ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ *IN VITRO* ДЛЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ АГРОБИОТЕХНОЛОГИЙ В СЕМЕНОВОДСТВЕ КАРТОФЕЛЯ.. 929  
Ткаченко О.В., Каргаполова К.Ю., Евсеева Н.В., Бурыгин Г.Л., Матора Л.Ю., Щеголев С.Ю. 929

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛНОГЕНОМНОГО АНАЛИЗА АССОЦИАЦИЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЛОКУСОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM TUBEROSUM L.* К ЗОЛОТИСТОЙ КАРТОФЕЛЬНОЙ НЕМАТОДЕ ..... 930  
Тоцкий И.В., Розанова И.В., Хлесткина Е.К., Кочетов А.В. 930

СЕЛЕКЦИЯ ТОПОЛЯ ДЛЯ ЗАЩИТНОГО ЛЕСОРАЗВЕДЕНИЯ..... 931  
Царева Р.П. 931

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПЛОДАХ ПЕРЦА И ЗЕРНЕ ПШЕНИЦЫ, ОБЛАДАЮЩИХ РАЗЛИЧНОЙ ПИГМЕНТАЦИЕЙ..... 932  
Юдина Р.С., Захарова О.В., Гордеева Е.И. 932

**Симпозиум XI: Мутации, рекомбинация, репарация / Symposium XI: Mutations, DNA repair and recombination** ..... 933

ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ В ГЕНЕ *HIM1* НА ПЕРЕКЛЮЧЕНИЕ ПОЛИМЕРАЗ В ПРОЦЕССЕ ПОСТРЕПЛИКАТИВНОЙ РЕПАРАЦИИ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ..... 933  
Алексеева Е.А., Федоров Д.В., Евстохина Т.А., Пешехонов В.Т., Королев В.Г. 933

АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *ERCC2/XPD* И ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ У БОЛЬНЫХ АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО ..... 934  
Баканова М.Л., Минина В.И., Савченко Я.А., Соболева О.А., Рыжкова А.В., Титов Р.А., Тимофеева А.А., Астафьева Е.А., Титов В.А., Вафин И.А. 934

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ [Fe-S]-КЛАСТЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С С-КОНЦОМ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ *POI<sub>B</sub>* И *POI<sub>ζ</sub>* В КОНТРОЛЕ СПОНТАННОГО И ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАГЕНЕЗА..... 935  
Гринько А.Г., Степченкова Е.И., Павлов Ю.И. 935

ВЛИЯНИЕ МУТАГЕННЫХ И НЕМУТАГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ РЕДАКТИРУЮЩИХ ЦИТИДИН-ДЕЗАМИНАЗ СЕМЕЙСТВА АРОВЕС/AID ..... 936  
Зотова И. В., Степченкова Е. И., Павлов Ю. И. 936

ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ ЭКСТРЕМОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ <i>DEINOCOCCUS GOBIENSIS</i> .....	937
Никитин М.В., Простова М.А., Есюнина Д.М., Комар А.А., Кульбачинский А.В.937	
ЭНХАНСЕРЫ ГЕНА VESTIGIAL D. MELANOGASTER ЛОКАЛИЗУЮТСЯ В КРУПНЫХ ИНТРОНАХ ГЕНА. ....	938
Харченко Н.Е., Афанасьева К.П. , Александров И.Д.938	
СЕКВЕНИРОВАНИЕ КАК НАУЧНАЯ ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ. ....	939
Александров И.Д., Александрова М.В.939	
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ МУТАЦИЙ VESTIGIAL-NO WING D. MELANOGASTER.....	940
Афанасьева К.П., Харченко Н.Е., Александров И.Д.940	
ТРАНСПОРТЕРЫ СИСТЕМЫ MmpS5/MmpL5 ОБЕСПЕЧИВАЮТ УСТОЙЧИВОСТЬ <i>MYSOBACTERIUM SMEGMATIS</i> К ИМИДАЗО[1,2- <i>b</i> ][1,2,4,5]ТЕТРАЗИНАМ.....	941
Ватлин А.А., Шур К.В., Даниленко В.Н., Маслов Д.А..941	
NEAR-CONTINUOUSLY SYNTHESIZED LEADING STRANDS IN <i>ESCHERICHIA COLI</i> ARE BROKEN BY RIBONUCLEOTIDE EXCISION.....	942
Cronan G., Kouzminova E. A., Kuzminov A.942	
БЕЛОК-БЕЛКОВЫЕ И ДНК-БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В КОМПЛЕКСЕ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ НУКЛЕОТИДОВ И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ.....	943
Речкунова Н.И., Мальцева Е.А., Красикова Ю.С., Суханова М.В., Лаврик О.И.943	
ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ДНК КОМЕТ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ОДНО- И ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТКАХ .....	944
Фролова Т. С., Синицина О. И.944	
СТРЕССИРОВАНИЕ 2,5-ДИМЕТИЛПИРАЗИНОМ ВЫЗЫВАЕТ УВЕЛИЧЕНИЕ ЧИСЛА КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА С ФОКУСАМИ $\gamma$ H2АХ ГИСТОНА У САМЦОВ МЫШЕЙ .....	945
Щербинина В.Д., Мамонтова В.А., Поденкова У.И., Бурнусуз А.В., Петрова М.В., Глинин Т. С., Даев Е.В.945	
<b>Симпозиум XII: Симбиогенетика и метагеномика / Symposium XII: Symbiogenetics and Metagenomics</b> .....	946
СВЯЗЬ СОСТАВА БАКТЕРИАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ ВЕРНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ С ГЕНОТОКСИЧЕСКИМИ ЭФФЕКТАМИ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ РАБОТНИКОВ УГОЛЬНОЙ ИНДУСТРИИ.....	946
Баранова Е.Д., Дружинин В.Г.946	
РОЛЬ ГЕТЕРОТРИМЕРНЫХ G-БЕЛКОВ В КОНТРОЛЕ КЛУБЕНЬКООБРАЗОВАНИЯ У ГОРОХА <i>PISUM SATIVUM</i> L.....	947
Бовин А.Д., Павлова О.А. , Лепянен И.В. , Кириенко А.Н., Долгих Е.А.947	
АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ PSNCR019 И PSNCR046 <i>P. SATIVUM</i> L. ПРОТИВ ПОЧВЕННЫХ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ.....	948
Васильева Е.Н., Клюкова М.С., Зорин Е.А., Афонин А.М., Ахтемова Г.А., Жуков В.А., Тихонович И.А. 948	
ИНАКТИВАЦИЯ ГЕНА NODX В ШТАМАХ R.LEGUMINOSARUM BV. VICIAE, СИМБИОНТОВ РЕЛИКТОВОГО БОБОВОГО VAVILOVIA FORMOSA.....	949
Гладков Г.В., Кимеклис А.К., Онищук О.П., Курчак О.Н., Кузнецова И.Г., Сазанова А.Л., Сафронова В.И., Белимов А.А., Аксёнова Т.С., Пинаев А.Г., Андронов Е.Е., Проворов Н.А.949	
УЧАСТИЕ DELLA-БЕЛКОВ В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА ЦИТОКИНИНОВ ПРИ РАЗВИТИИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА .....	950
Долгих А.В., Кириенко А.Н. , Тихонович И.А., Долгих Е.А.950	
ПОИСК ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА NCR-ПЕПТИДОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО ( <i>PISUM SATIVUM</i> L.), ОБЛАДАЮЩИХ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ.....	951
Зорин Е.А., Клюкова М.С., Афонин А.М., Тихонович И.А., Жуков В.А.951	

- NODULE DEVELOPMENT IS ACCOMPANIED BY A CHANGE IN THE GLUTATHIONE /  
НОМОГЛУТАТИОНЕ РАТНО В *PISUM SATIVUM* L.....952  
Ivanova K. A. , Tsyganov V.E.952
- ОСОБЕННОСТИ СИМБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ  
РИЗОБИЙ RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM BV. VICIAE РЕЛИКТОВОГО БОБОВОГО  
VAVILOVIA FROMOSA. ....953  
Кимеклис А.К., Гладков Г.В., Кузнецова И.Г., Сазанова А.Л., Сафронова В.И., Белимов А.А., Онищук  
О.П., Курчак О.Н., Аксёнова Т.С., Пинаев А.Г., Андронов Е.Е., Проворов Н.А.953
- ПОИСК ЭНДОСИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ В АССОЦИАЦИЯХ «ГЛЯ — НАЕЗДНИК»  
.....954  
Деменкова М.А., Коложвари А.Э., Гандрабур Е.С., Юрлова Г.В., Быков Р. А., Илинский Ю.Ю.954
- ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ,  
СУПРЕССИРУЮЩИХ МУТАЦИИ В ПОЗДНИХ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНАХ SYM25 И  
SYM26 ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM*).....955  
Масликова Т.И., Афонин А.М., Сулима А.С., Жуков В.А.955
- ИНДИКАЦИЯ СОСТОЯНИЙ ПОЧВЕННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ  
ПОСТРОЕНИЯ ФРАКТАЛЬНЫХ МИКРОБИОМНЫХ ПОРТРЕТОВ .....956  
Пухальский Я.В., Воробьев Н.И., Лоскутов С.И., Пищик В.Н. Свиридова О.В., Пирмагомедов Р.С.,  
Кожемяков А.П.956
- ГЕНОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОГО ШТАММА *Sinorhizobium meliloti* AK555 .....957  
Саксаганская А.С. , Мунтян В.С., Лактионов Ю.В., Румянцева М.Л., Симаров Б.В.957
- МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТАРЕНИЯ  
СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.) .....958  
Серова Т.А., Цыганов В.Е.958
- ГЕНОМ МОДЕЛЬНОГО ШТАММА *Sinorhizobium meliloti* СХМ1-105 .....959  
Черкасова М.Е. , Мунтян В.С., Румянцева М.Л., Симаров Б.В.959
- ИССЛЕДОВАНИЕ ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАНТА ЛЮЦЕРНЫ ХМЕЛЕВИДНОЙ  
(*MEDICAGO LUPULINA* L. SUBSP. *VULGARIS* KOCH) ПО СИМБИОТИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ  
ПРИ ОБРАЗОВАНИИ МИКОРИЗНОГО СИМБИОЗА.....960  
Якоби Л.М.<sup>1</sup>, Железняков С.В.<sup>1</sup>, Сметанин Р.В.<sup>1</sup>, Лебедева В.К.<sup>1</sup>, Кожемяков А.П.<sup>1</sup>960
- РАЗНООБРАЗИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ WOLBACHIA И МТДНК В  
ПОПУЛЯЦИЯХ POLYGRYPHUS PROXIMUS BLANDFORD (COLEOPTERA;  
CURCULIONIDAE, SCOLYTINAE) .....961  
Быков Р.А., Деменкова М.А. , Керчев И.А., Илинский Ю.Ю.961
- ПОДЗЕМНОЕ ГОРЕНИЕ УГОЛЬНЫХ ПЛАСТОВ ПОДДЕРЖИВАЕТ РАЗВИТИЕ  
СООБЩЕСТВА ТЕРМОФИЛЬНЫХ ВОДОРОД-ОКИСЛЯЮЩИХ ФИРМИКУТ.....962  
Кадников В.В., Марданов А.В., Ивасенко Д.А., Анциферов Д.В., Белецкий А.В., Карначук О.В., Равин  
Н.В.962
- ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ WOX И KNOX В РАЗВИТИИ СИМБИОТИЧЕСКИХ  
КЛУБЕНЬКОВ КАК КОМПОНЕНТЫ КОНСЕРВАТИВНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ МОДУЛЕЙ  
РАСТЕНИЙ.....963  
Лебедева М.А., Азарахш М., Лутова Л.А.963
- ГЕТЕРОЛОГИЧНЫЙ СИНТЕЗ В КЛЕТКАХ НАСЕКОМЫХ РЕЦЕПТОРОВ,  
КОНТРОЛИРУЮЩИХ УЗНАВАНИЕ РАСТЕНИЯМИ ХИТОЛИГОСАХАРИДНЫХ  
СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ СИМБИОТИЧЕСКИХ И ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ .....964  
Павлова О.А., Леппянен И.В., Бовин А.Д., Вашурина М.А., Сендерский И.В., Долгих В.В., Долгих  
Е.А.964
- НОВЫЕ ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ,  
КОДИРУЮЩЕМ ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР CYCLOPS/IPD3 У *PISUM SATIVUM*.....965  
Цыганова А.В., Селивёрстова Е.В., Иванова К.А., Brewin N.J, Цыганов В.Е.965
- GENETIC MECHANISMS UNDERLYING THE PROCESS OF COLONIZATION OF PEA BY  
NODULE BACTERIA AND ARBUSCULAR-MYCORRHIZAL FUNGI .....966  
Shtark O.Y., Zhernakov A.I., Kitaeva A.B., Aфонin A.M., Kulaeva O.A., Kliukova M.S., Fedorina J.V.,  
Sulima A.S., Avdeeva G.S., Akhtemova G.A., Tsyganov V.E., Winter P., Tikhonovich I.A., Zhukov  
V.A.966

ПОГЛОЩЕНИЕ ФОСФОРА И УГЛЕВОДНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ <i>Medicago lupulina</i> ПРИ ОБРАЗОВАНИИ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ С <i>Rhizophagus irregularis</i> В УСЛОВИЯХ НИЗКОГО УРОВНЯ ФОСФОРА В СУБСТРАТЕ .....	967
Юрков А.П., Крюков А.А., Горбунова А.О., Шишова М.Ф.967	
<b>Симпозиум XIII: Редактирование генома / Symposium XIII: Genome Editing</b> .....	968
ИНДУКЦИЯ БОРОДАТЫХ КОРНЕЙ ТАБАКА ПУТЕМ БИОБАЛЛИСТИЧЕСКОЙ ДОСТАВКИ <i>ROL</i> -ГЕНОВ И CRISPR/CAS КОМПОНЕНТОВ .....	968
Гумерова Г.Р., Кулуев Б.Р., Чемерис А.В.968	
<b>Симпозиум XIV: Дифференцировка и стволовые клетки / Symposium XIV: Stem Cells and Differentiation</b> .....	969
АПОПТОЗ КАК ПУТЬ СТАБИЛИЗАЦИИ ХРОМОСОМНОГО НАБОРА СИСТЕМЫ КЛЕТОК АПИКАЛЬНЫХ МЕРИСТЕМ .....	969
Козак М.Ф.969	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСДУКЦИИ ФИБРОБЛАСТОВ ЛАСТОНОГИХ ИНТЕГРАТИВНЫМИ И НЕИНТЕГРАТИВНЫМИ ВИРУСНЫМИ ВЕКТОРАМИ .....	970
Мензоров А.Г., Беклемишева В.Р.970	
<b>Симпозиум XV: Селекция и биотехнология животных / Symposium XV: Animal Biotechnology and Breeding</b> .....	971
ЭКСПРЕССИЯ РЕПОРТЕРНОГО ГЕНА В РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ И РЫБ .....	971
Полтева Е.А., Козикова Л.В.971	
СТРУКТУРА ЯДРЫШКОВОГО ОРГАНИЗАТОРА В ГЕНОМЕ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ .....	972
Соколовская А.А., Дёмин А.Г., Сайфитдинова А.Ф., Галкина С.А., Гагинская Е.Р.972	
МЕТОД ОТБОРА КОРОВ И БЫКОВ НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К МАСТИТУ ПО КОЛИЧЕСТВУ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В МОЛОКЕ .....	973
Болгов А.Е., Комлык И.П., Гришина Н.В., Скрипникова И.Н.973	
CLONAL BIOTECHNOLOGICAL SERICULTURE .....	974
Klymenko V.V., Zabelina V.A., Tamura T., Sehnal F.974	
ГЕТЕРОХРОМАТИНОВЫЕ РАЙОНЫ В ХРОМОСОМАХ ЯПОНСКОГО ПЕРЕПЕЛА .....	975
Кулак М.М., Комиссаров А.С., Демин А.Г., Фийон Валери, Сайфитдинова А.Ф., Павлова О.А., Гагинская Е.Р., Галкина С.А.975	
НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ДЕФЕКТЫ, ВЫЯВЛЕННЫЕ В БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ГАПЛОТИПАМИ ФЕРТИЛЬНОСТИ .....	976
Михайлова М.Е., Киреева А.И., Романишко Е.Л., Камыш Н.А., Тиханович Н.И., Шейко Р.И.976	
<b>Симпозиум XVI: Регуляция действия гена и эпигенетика / Symposium XVI: Regulation of Gene Expression and Epigenetics</b> .....	977
СТРУКТУРА И РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ <i>LUX</i> -ОПЕРОНА МОРСКИХ СВЕТЯЩИХСЯ ПСИХРОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ <i>ALIVIBRIO LOGEI</i> .....	977
Баженов С.В., Мелькина О.Е., Хрульнова С.А., Завильгельский Г.Б., Манухов И.В.977	
ОПТИМИЗАЦИЯ ДЕЗОКСИРИБОЗИМОВ ДЛЯ РАСЩЕПЛЕНИЯ ГЕНА ДОМАШНЕГО ХОЗЯЙСТВА DAD1 .....	978
Дубовиченко М.В., Недорезова А.Д., Колпачиков Д.М.978	
ПОИСК И АНАЛИЗ НОВЫХ АМИЛОИДОГЕННЫХ БЕЛКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДРОЖЖЕВОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ .....	979
Зелинский А.А., Романова Н.В., Качкин Д.В., Каява А.В., Рубель А.А., Чернов Ю.О.979	
ИЗУЧЕНИЕ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКОВ PHS3 И RAD51 <i>IN VITRO</i> И <i>IN VIVO</i> .....	980
Качкин Д.В., Аксенова А.Ю., Герасимова Е.М., Рубель А.А., Чернов Ю.О.980	

- МЕТИЛИРОВАНИЕ ПСЕВДОГЕНА *PENP1* В ТКАНЯХ ЭНДОМЕТРИЯ И РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЯХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА** ..... 981  
Коваленко Т.Ф., Морозова К.В., Лапина И.А., Бобров М.Ю., Озолия Л.А., Патрушев Л.И.981
- ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРНЫХ РЕГИОНОВ ГЕНОВ *MIR21* И *CARMN (MIR143HG)* ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ** ..... 982  
Королёва Ю. А., Зарубин А.А., Марков А.В., Салахов Р.Р., Шарыш Д.В., Слепцов А.А., Казанцев А.Н., Бурков Н.Н., Барбараш О.Л., Пузырев В.П., Назаренко М.С.982
- ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ВИДОВОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ И ПЕРЕДАЧИ ПРИОНОВ У ДРОЖЖЕЙ** ..... 983  
Майтова А.В. , Гризель А.В. , Рубель А.А. , Чернов Ю.О.983
- ТКАНЕСПЕЦИФИЧНОЕ МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК РЕГУЛЯТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНОВ *AVSA1* И *AVSG1* В ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ИБС** ..... 984  
Мирошникова В.В., Пантелеева А.А., Марков А.В., Назаренко М.С., Побожева И.А., Разгильдина Н.А., Беляева О.Д., Полякова Е.А., Беркович О.А., Баранова Е.И., Пчелина С.Н.984
- СИСТЕМА ЛОКУСА *YELLOW* ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ГЕНОМЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER*** ..... 985  
Русакovich А.Н., Кравченко Е.В. 985
- РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА ОПТИМИЗАЦИИ КАПЕЛЬНОЙ ЦИФРОВОЙ ПЦР (DDPCR) ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ЧИСЛА КОПИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО И ЯДЕРНОГО ГЕНОМОВ, ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И ЗРЕЛОЙ МИКРОРНК** ..... 986  
Слепцов А.А., Зайцева А.В., Гончарова И.А., Голубенко М.В., Назаренко М.С.986
- МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК ГЕНА ЭКДИЗОНОВОГО РЕЦЕПТОРА У КОМНАТНОЙ МУХИ И КОЛОРАДСКОГО ЖУКА** ..... 987  
Никоноров Ю.М., Беньковская Г.В. , Ахметкиреева Т.Т.987
- EXPRESSION OF EPIGENETIC PROTEINS AND HISTONE MODIFICATIONS IN PENUMBRA IN THE RAT CEREBRAL CORTEX AFTER PHOTOTHROMBOTIC STROKE** ..... 988  
Demyanenko S.V., Dzreyan V.A., Guzenko V.V., Uzdensky A.B.988
- АНАЛИЗ СВЯЗИ МЕТИЛИРОВАНИЯ CpG-САЙТОВ ГЕНОВ –РЕГУЛЯТОРОВ РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗА С РАЗВИТИЕМ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА** ..... 989  
Бушуева О.Ю., Барышева Е.М., Марков А.В., Королёва Ю.А., Чуркин Е.О., Назаренко М.С., Полоников А.В., Иванов В.П.989
- ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ ХЛОРОПЛАСТОВ НА УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ФИТОХРОМОВ – УЧАСТВУЕТ ЛИ РЕТРОГРАДНЫЙ СИГНАЛИНГ?** ..... 990  
Добрякова К.С., Тютерева Е.В. , Войцеховская О.В.990
- ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ АДИПОГЕНЕЗА В ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ ГЕТЕРОТОПИЯХ: ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭНДОМЕТРИОЗА** ..... 991  
Мальшева О.В., Осинковская Н.С., Швед Н.Ю. , Ярмолинская М.И., Баранов В.С. 991
- МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК И КЛЕТОЧНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ В АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШКАХ СОННЫХ АРТЕРИЙ У ЧЕЛОВЕКА** ..... 992  
Марков А.В., Зарубин А.А., Шарыш Д.В., Голубенко М.В., Бабушкина Н.П., Валиахметов Н.Р., Казанцев А.Н., Бурков Н.Н., Барбараш О.Л., Пузырев В.П., Назаренко М.С.992
- АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ И НАСЛЕДОВАНИЯ ТИПОВ СПАРИВАНИЯ У ВИДОВ-ДВОЙНИКОВ ИНФУЗОРИЙ КОМПЛЕКСА *PARAMECIUM AURELIA*** ..... 993  
Потехин А.А., Некрасова И.В., Савка Н., Сингх Д.П., Майер Э.993
- HORMONAL REGULATION OF GENE EXPRESSION AND ITS SIGNIFICANCE IN THE SEX DETERMINATION IN ANIMALS** ..... 994  
Trukhina A.V., Leoke D.Yu , Nekrasova A.A., Smirnov A.F.994
- RNA POLYMERASE II* GENE EXPRESSION IN CLINICAL *LEISHMANIA MAJOR* ANTIMONIAL RESISTANCE ISOLATES** ..... 995  
Ahmadian S. , Eslami G. , Fatahi A., Hosseini S.S. , Vakili M., Elloumi M.995

NEONATAL DEXAMETHASONE TREATMENT DISRUPTS FUNCTION OF CENTRAL NUCLEUS AMYGDALA IN ADULT MALE RATS .....	996
Lu K.T., Ko M.C., Lee M.C., Tang T.H., Lin W.H., Amstislavskaya T.G., Tikhonova M.A., Yang Y.L.996	
ЭКСПРЕССИЯ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ РАМКИ СЧИТЫВАНИЯ В СОСТАВЕ ГЕННОЙ МАТРЕШКИ КАК НОВЫЙ МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЯ НА СТРЕСС .....	997
Шешукова Е.В., Комарова Т.В., Ершова Н.М., Камарова К.А., Корзина А.С., Гавриш Г.Е., Дорохов Ю.Л.997	
<b>Симпозиум XVII: Популяционная генетика / Symposium XVII: Population genetics</b> .....	998
ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСНОВ БРАЧНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ГИБРИДОВ ВИДОВ-БЛИЗНЕЦОВ <i>D. VIRILIS</i> И <i>D. AMERICANA</i> .....	998
Белкина Е.Г., Куликов А.М., Лазебный О.Е.998	
ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ КАМБАЛЫ-КАЛКАН ( <i>SCOPHTHALMUS MAEOTICUS</i> ) В АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОМ БАССЕЙНЕ .....	999
Бессонова Н.А.999	
ТЕХНОЛОГИЯ NGS И Y-ХРОМОСОМНЫЕ ФИЛОГЕНИИ: ПРЕДЕЛЫ РАЗРЕШЕНИЯ.....	1000
Запорожченко В.В., Жабегин М.К., Балановский О.П.1000	
МЕНДЕЛЕВСКИЕ И НЕМЕНДЕЛЕВСКИЕ ГЕНЫ И ПРИЗНАКИ .....	1001
Иванов Ю.Н.1001	
ИЗУЧЕНИЕ IVS1-5T>C В ГЕНЕ <i>ССКАР</i> У ЭТНИЧЕСКИХ БЕЛОРУСОВ.....	1002
Иванова А.С., Синявская М.Г., Климов Е.А., Голоенко И.М., Давыденко О.Г.1002	
РЕКОНСТРУКЦИЯ ГЕНОФОНДА УБЫХОВ ЗАПАДНОГО КАВКАЗА ПО ДАННЫМ О ПОЛИМОРФИЗМЕ Y-ХРОМОСОМЫ .....	1003
Кагазежева Ж.А., Схалыхо Р.А., Почешхова Э.А., Балановская Е.В., Балановский О.П.1003	
МЕЖВИДОВАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ У ЧЕШУЕКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ: РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ИНТРОГРЕССИИ В ФИЛОГЕНИИ И СИСТЕМАТИКЕ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП.....	1004
Куфтина Г.Н., Шаповал Н.А., Яковлев Р.В.1004	
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЕВРОПЕЙСКОГО АНЧОУСА ( <i>ENGRAULIS ENCRASICOLUS</i> ) АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОГО БАССЕЙНА.....	1005
Лебедева Е.В.,1005	
МУТАЦИЯ с.358 360delGAG КАК САМАЯ ЧАСТАЯ В ГЕНЕ <i>GJB2</i> У ОСЕТИН С НЕСИНДРОМАЛЬНОЙ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТЬЮ. ....	1006
Петрина Н.Е., Балинова Н.В., Марахонов А.В., Гетоева З.К., Михайлиди Е.Ф., Джаджиева М.Ю., Кадышев В.В., Галкина В.А., Зинченко Р.А.1006	
СТРУКТУРА РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ГРИБА <i>TRICHOPHYTON RUBRUM</i> .....	1007
Пчелин И.М., Мочалов Ю.В., Чилина Г.А., Васильева Н.В., Тараскина А.Е.1007	
РАЗНООБРАЗИЕ STR-ГАПЛОТИПОВ Y-ХРОМОСОМЫ КОРЕННЫХ НАРОДОВ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА: ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ.....	1008
Романов А.Г., Балановская Е.В., Богунов Ю. В., Богунова А.А., Каменщикова Е. Н., Агджоян А. Т., Балановский О.П.1008	
ИНВЕРСИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ <i>SIMULIUM NOELLERI</i> (DIPTERA, SIMULIIDAE) В ПОПУЛЯЦИЯХ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ .....	1009
Тополенко В.И., Власов С.В.1009	
ПРИРОДНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ЕВРОПЕЙСКОЙ И ЗАПАДНОСИБИРСКОЙ СТЕРЛЯДИ ( <i>ACIPENSER RUTHENUS</i> L. 1758).....	1010
Щербакова В.Д., Барминцева А.Е., Мюге Н.С.1010	
РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПРОЦЕССЕ ЭЛИМИНАЦИИ МАЛЯРИИ В СНГ И ГРУЗИИ .....	1011
Гордеев М.И., Ежов М.Н.1011	
GENETIC RECONSTRUCTION OF ARTSAKH PALAEOFAUNA .....	1012
Yepiskoposyan L., Antonosyan M., Seersholm F., Davtyan A.1012	

ТАНДЕМНЫЕ СЛИЯНИЯ И МНОЖЕСТВЕННЫЙ ХРОМОСОМНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ДВУХ ВИДОВ ВОСТОЧНОАЗИАТСКИХ ПОЛЕВОК ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ.....	1013
Картавцева И.В., Шереметьева И.Н.1013	
ПОПУЛЯЦИОННАЯ ГЕНЕТИКА ГРИБОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ЗЛАКОВ.....	1014
Левитин М.М., Афанасенко О.С., Гагкаева Т.Ю., Ганнибал Ф.Б., Гультяева Е.И., Мироненко Н.В.1014	
СПОСОБ ПОДДЕРЖАНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ ЖИВОТНЫХ ИЛИ РАСТЕНИЙ НА УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ КАК РЕЗУЛЬТАТ НОВОГО НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОГО НАПРАВЛЕНИЯ – ГЕНОУРБАНОЛОГИИ.....	1015
Макеева В.М., Смуров А.В., Белоконь М.М. Политов Д.В., Белоконь Ю.С., Леонтьева О.А., Суслова Е.Г., Снегин Э.А., Титова С.В., Алазнели И.Д., Остапчук А.М., Каледин А.П.1015	
EXPRESSION OF THE <i>TOXA</i> EFFECTOR GENE IN THE <i>PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS</i> ISOLATES <i>IN VITRO</i> .....	1016
Mironenko N.V. , Orina A.M., Kovalenko N.M.1016	
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХИРОНОМИД СЕМ. CHIRONOMIDAE (DIPTERA).....	1017
Петрова Н. А.1017	
ИЗМЕНЧИВОСТЬ ДУБОВЫХ ПОПУЛЯЦИЙ В КОЛХИДСКОЙ НИЗМЕННОСТИ ГРУЗИИ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ.....	1018
Тодуа В.А., Джабнидзе Р.С., Тедорадзе Л.Р., Берикашвили Д.С., Цквитая С.Р.1018	
АНАЛИЗ УРОВНЯ СПОНТАННОГО МУТАГЕНЕЗА В РАЙОНАХ КУРСКОЙ ОБЛАСТИ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС.....	1019
Трубникова Е.В., Комкова Г.В., Железнова М.А., Шульгин И.Ю., Нгуен Т.Х.1019	
ОСОБЕННОСТИ КАРТИНЫ ПОЛИМОРФИЗМА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ ПРИ ФАКУЛЬТАТИВНОМ ПОЛОВОМ РАЗМНОЖЕНИИ.....	1021
Щербаков Д.Ю., Букин Ю.С., Порошина А.А., Перетолчина Т.Е., Минчева Е.В.1021	
НЕОДНОРОДНОСТЬ РАССЕЛЕНИЯ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП ПО ТЕРРИТОРИИ МЕГАПОЛИСА КАК ФАКТОР ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПОПУЛЯЦИИ.....	1022
Грачева А.С., Победоносцева Е.Ю., Удина И.Г., Курбатова О.Л.1022	
ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ АНТИГЕНОВ (АВО) У ТУВИНЦЕВ.....	1023
Доржу Ч.М., Ховалыг А.О., Донгак М.И.1023	
РОЛЬ РОДОПЛЕМЕННОЙ СТРУКТУРЫ В ФОРМИРОВАНИИ АРХИТЕКТониКИ ГЕНОФОНДА КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ.....	1024
Жабагин М.К., Балановский О.П., Сабитов Ж.М., Акильжанова А.Р., Балановская Е.В.1024	
СТРУКТУРА РУССКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ПО ДАННЫМ ПРОЕКТА «РОССИЙСКИЕ ГЕНОМЫ».....	1025
Жернакова Д. В. ,Евсюков И , Жук А. , Добрынин П. , Малов С., Черкасов Н. , Г. Тамазян , М. Роткевич , К.Крашенинникова , А. Горбунова , А.Шевченко , А.Комиссаров , С. Симонов , А. Логачёв , А. Новожилов , Т. К. Олексик , К. П.Кёпфли , В. Брюхин , С.О’Брайен .1025	
ОСОБЕННОСТИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕХАНИЗМА ЯРОВИЗАЦИОННО-ОПОСРЕЛОВАННОГО ПЕРЕХОДА К ЦВЕТЕНИЮ <i>Arabidopsis thaliana</i> СЕВЕРНЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ.....	1026
Зарецкая М.В., Федоренко О.М., Топчиева Л.В., Лебедева О.Н.1026	
ДИНАМИКА ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПА ГОМОЗИГОТНОГО ПО ПОЛУЛЕТАЛЬНОМУ АЛЛЕЛЮ <i>GDH-1</i> <sup>1</sup> У ПОТОМСТВА ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ РАЗНОЙ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ.....	1027
Камалова И.И., Внукова Н.И., Сердюкова А.П., Клушевская Е.С.1027	
РОЛЬ НЕЙРОГОРМОНАЛЬНОЙ СТРЕСС-РЕАКЦИИ В ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ <i>DROSOPHILA VIRILIS</i> .....	1028
Карпова Е.К., Раушенбах И.Ю., Грунтенко Н.Е.1028	

РЕГИОНАЛЬНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОЛОДИ ГОРБУШИ <i>ONCORHYNCHUS GORBUSCHA</i> (WALBAUM) БАССЕЙНА ОХОТСКОГО МОРЯ ПО МАТЕРИАЛАМ ОСЕННЕЙ ТРАЛОВОЙ СЪЕМКИ 2018 г. ....	1029
Косицына А.И., Шпигальская Н.Ю., Сараванский О.Н.1029	
ПОПЫТКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА .....	1030
Лазебный О.Е., Фокин А.В., Бутовская П.Р., Куликов А.М., Бутовская М.Л.1030	
МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ В КОМПЛЕКСЕ <i>DIACYCLOPS VERSUTUS</i> (MAZEROVA, 1961), <i>D. IMPROCERUS</i> (MAZEROVA, 1950) И <i>D. GALBINUS</i> (MAZEROVA, 1961) (СОРЕПОДА) ИЗ ОЗ. БАЙКАЛ.....	1031
Майор Т.Ю., Зайдыков И.Ю.1031	
GENETIC DIVERSITY OF <i>TRAPA L.</i> POPULATIONS IN RUSSIA AND EUROPE.....	1032
Mikhaylova E.V., Artyukhin A.E., Kuluev B.R.1032	
ХРОМОСОМНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПОПУЛЯЦИЯХ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ ЮГА ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ .....	1033
Москаев А.В. , Бега А.Г., Лопатин А.А.1033	
ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ ЯДЕРНОЙ ДНК НЕРКИ <i>ONCORHYNCHUS NERKA</i> (WALBAUM) НА АЗИАТСКОЙ ЧАСТИ АРЕАЛА.....	1034
Пильтганчук О.А. , Шпигальская Н.Ю.1034	
МИКРОЭВОЛЮЦИЯ ГОЛЬЦОВ РОДА <i>SALVELINUS</i> : МОДЕЛЬ МНОЖЕСТВЕННЫХ ВСЕЛЕНИЙ В ИЗОЛИРОВАННЫЕ ОЗЕРА СЕВЕРО-ВОСТОКА РОССИИ.....	1035
Олейник А.Г., Скурихина Л.А. , Кухлевский А.Г.1035	
УГОРСКИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СУБСТРАТ В ГЕНОФОНДЕ КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОЙ И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ .....	1036
Хитринская И.Ю, Харьков В.Н., Новикова Л.М., Зарубин А.А., Степанов В.А.1036	
ВНУТРИВИДОВАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ <i>OXYTROPIS RUTHENICA</i> VASS. – ЭНДЕМИКА ПРИМОРСКОГО КРАЯ.....	1037
Холина А.Б., Козыренко М.М., Артюкова Е.В., Колдаева М.Н., Якубов В.В., Прокопенко С.В.1037	
ДВЕ МОДЕЛИ ФОРМИРОВАНИЯ БАШКИРСКОГО ГЕНОФОНДА.....	1038
Юсупов Ю.М., Балановская Е.В., Бычковская Л.С., Короткова Н.А., Балановский О.П.1038	
АНАЛИЗ VNTR–ПОВТОРОВ В ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА ( <i>AVPR1A</i> ) В ЯКУТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ .....	1039
Находкин С.С. , Барашков Н.А. , Пшенникова В.Г. , Казанцева А.В. , Хуснутдинова Э.К. , Федорова С.А. 1039	
АНАЛИЗ РОЛИ УЧАСТКА НА ХРОМОСОМЕ 10 ЛИСИЦЫ ( <i>VULPES VULPES</i> ) В КОНТРОЛЕ РАЗМЕРОВ ЧЕРЕПА. ....	1040
Харламова А.В., Владимирова А.В., Кукекова А.В., Трут Л.Н., Ефимов В.М.1040	
ВЛИЯНИЕ ВЫРУБКИ ЛЕСА НА ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ <i>FRAGARIA VESCA</i> L.....	1041
Бабынин Э.В., Дубровная С.А. Хамидуллин И.И.1041	
АВТОМАТИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ВЫВОДА СОВМЕСТНОЙ ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ ИСТОРИИ НЕСКОЛЬКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ИЗ АЛЛЕЛЬ-ЧАСТОТНОГО СПЕКТРА .....	1042
Носкова Е.Э., Ульяновцев В.И. , Копфли К., О’Брайен С.Д., Добрынин П.В.1042	
РЕКОНСТРУКЦИЯ ГЕНОФОНДА УБЫХОВ ЗАПАДНОГО КАВКАЗА ПО ДАННЫМ О ПОЛИМОРФИЗМЕ Y-ХРОМОСОМЫ .....	1043
Кагазежева Ж.А., Схалыхо Р.А., Почешхова Э.А., Балановская Е.В., Балановский О.П.1043	
ПРИРОДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ И БИОГЕОГРАФИЯ СИБИРСКОГО ОСЕТРА <i>ACIPENSER BAERII</i> BRANDT.....	1044
Барминцева А.Е., Мюге Н.С.1044	
GENETIC VARIABILITY OF BROWN TROUT ( <i>SALMO TRUTTA</i> ) STUDIED BY APPLYING MICROSATELLITE ANALYSIS .....	1045
Nabeshina N.A.1045	

**Симпозиум XIX: Генетика поведения, старения и нейрогенетика / Symposium XIX: Genetics of Ageing, Behavior and Neurogenetics**.....1046

ПОИСК НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ, СВЯЗАННЫХ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА, НА ОСНОВЕ РЕПЛИКАЦИИ ДАННЫХ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ИНДИВИДУУМОВ С ВЫСОКИМИ И НИЗКИМИ КОГНИТИВНЫМИ СПОСОБНОСТЯМИ .....1046

Бочарова А.В., Вагайцева К.В., Марусин А.В., Макеева О.А., Маркова В.В., Минайчева Л.И., Жукова И.А., Жукова Н.Г., Матвеева М.В., Степанов В.А.1046

ПОВЕДЕНИЕ РЕЦИПРОКНЫХ ГИБРИДОВ *Drosophila melanogaster* С НАРУШЕНИЕМ СИНТЕЗА LIMK1 ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССА.....1047

Васильева С.А., Никитина Е.А., Медведева А.В., Савватеева-Попова Е.В.1047

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИОНОТРОПНЫХ ГЛУТАМАТНЫХ АМРА-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В МОЗГЕ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ.....1048

Зачепило Т.Г., Лопатина Н.Г.1048

РОЛЬ ГЕНОВ СТРЕСС-ОТВЕТА У ВИДОВ РОДА *DROSOPHILA* В РЕАКЦИИ НА ГИПЕРТЕРМИЮ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС.....1049

Земская Н.В., Коваль Л.А. Москалев А.А.1049

ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ И МУТАЦИЙ В ГЕНАХ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ АЭРОБНОЕ ДЫХАНИЕ МИКРОБИОТЫ, НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ НЕМАТОД *CAENORHABDITIS ELEGANS* .....1050

Каткова-Жукоцкая О.А., Еремина С.Ю., Шакулов Р.С., А.С. Миронов А.С.1050

СТРАТЕГИИ ПОВЕДЕНИЯ КРЫС ДВУХ ЛИНИЙ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ПОРОГУ ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ, В СИТУАЦИЯХ НОВИЗНЫ И КРАТКОСРОЧНОГО СТРЕССА.....1051

Левина А.С., Бондаренко Н.А., Ширяева Н.В., Вайдо А.И.1051

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА.....1052

Руденок М.М., Алиева А.Х., Колачева А.А., Угрюмов М.В., Сломинский П.А., Шадрин М.И. 1052

АНАЛИЗ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА *NTE* ЧЕЛОВЕКА В МОТОРНЫХ НЕЙРОНАХ И ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ НА МОДЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*.....1053

Рябова Е.В., Жмуйдина Д.Р., Сурина Н.В., Мелентьев П.А., Саранцева С.В.1053

MITOCHONDRIAL NETWORKS IN FIBROBLASTS OF SKIN PATIENTS WITH THE СОСКАУНЕ SYNDROME.....1054

Slizhov P.A., Dolinina T.I., Pleskach N.M., Zharebtsov S.V., Bulatnikova M.L., Mikhelson, V.M. Spivak I.M.1054

НОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В ТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА.....1055

Слободина А.Д., Мелентьев, Шварцман А.Л.,Саранцева С.В.1055

ЭКТОПИЧЕСКАЯ КОНДИЦИОННАЯ И ПОВСЕМЕСТНАЯ КОНСТИТУТИВНАЯ ЭКСПРЕССИЯ *CRY* ПРОДЛЕВАЮТ ЖИЗНЬ ОСОБЕЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ОСВЕЩЕНИЯ .....1056

Соловьёв И.А., Щеголева Е.В., Шапошников М.В., Москалев А.А.1056

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ КИНЕТИНА НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER* .....1057

Яковлева Д.В., Земская Н.В., Шапошников М.В., Москалев А.А.1057

ПОЛИМОРФИЗМ ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА NF-KB У ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ.....1058

Михаленко Е.П., Яцевич К.К., Кузьминова Е.И., Галиновский Д.В., Байда А.В., Михалюк Р.А., Воронины Л.П., Кильчевский А.В.1058

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ХРОМАТИНА И ЭКСПРЕССИЯ МИРНК МОГУТ СИНХРОННО ВОВЛЕКАТЬСЯ В КОНСОЛИДАЦИЮ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ .....1059

Л.Н. Гринкевич1059

- РОЛЬ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ МЕТАБОЛИЗМ ЭНДОГЕННОГО МЕТАНОЛА И ФОРМАЛЬДЕГИДА, В СТАРЕНИИ И ПОВЫШЕНИИ РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА.....1060  
Комарова Т.В. , Шешукова Е.В., Шпудейко П.С., Липскеров Ф.А., Дорохов Ю.Л.1060
- РЕШЕНИЕ ЭЛЕМЕНТАРНОЙ ЛОГИЧЕСКОЙ ЗАДАЧИ ЛАБОРАТОРНЫМИ МЫШАМИ, КАК ПРИЗНАК ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ. ....1061  
Огиенко Н.А., Перепелкина О.В., Тарасова А.Ю., Лильп И.Г., Полетаева И.И.,1061
- КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА: ОТ МОДЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЯ К АНАЛИЗУ ПАЦИЕНТОВ....1062  
Шадрина М.И., Алиева А.Х., Филатова Е.В. Доронина К.С., Доронина О.Б., Росинская А.В., Пчелина С.Н., Угрюмов М.В., Иллариошкин С.Н., Сломинский П.А.,1062
- ПОИСК ГАПЛОТИПОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С УРОВНЕМ КОГНИТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ПОЛНОЭКЗОМНЫХ ДАННЫХ.....1063  
Вагайцева К.В., Зарубин А.А. , Бочарова А.В., Макеева О.А., Маркова В.В., Степанов В.А.1063
- ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА *NEJIRE* В РАЗНЫХ ТКАНЯХ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*.....1064  
Коваль Л.А., Москалев А.А.1064
- MOLECULAR AND CELLULAR MECHANISMS OF AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION: EVIDENCES FROM OXYS RATS .....1065  
Kozhevnikova O.S., Telegina D.V., Kolosova N.G.1065
- EPITRANSCRIPTOMIC CHANGES IN METHYLENATED RNA IN THE CULTURE OF THE NEURONS OF THE HIPPOCAMP AND CORTEX OF RATS. ....1066  
Kolosov P.M., Novikov D.A. Uroshlev L.A., Bal N.V. Balaban P.M1066
- АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ, ВЫБРАННЫХ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ, С КОГНИТИВНЫМИ ПАРАМЕТРАМИ ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ.....1067  
Марусин А.В., Бочарова А.В. , Вагайцева К.В., Макеева О.А., Маркова В.В., Минайчева Л.И., Жукова И.А., Жукова Н.Г.Степанов В.А.1067
- ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА *GCLC* НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ, СТАРЕНИЕ И ТРАНСКРИПТОМ *DROSOPHILA MELANOGASTER* .....1068  
Прошкина Е.Н., Шапошников М.В., Белый А.А., Гуватова З.Г., Жикривецкая С.О., Лашманова Е.А., Коваль Л.А., Садритдинова А.Ф., Снежкина А.В., Краснов Г.С., Кудрявцева А.В., Москалев А.А.1068
- CALCIUM HYPOTHESIS OF ALZHEIMER'S DESEASE: PRO ET CONTRA AND NEW DISCOVERIES .....1069  
Ryazantseva M.A., Skobeleva K.V., Kaznacheyeva E.V.1069
- ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗ И ДЕАЦЕТИЛАЗ ГИСТОНОВ В ОТВЕТ НА ОСТРЫЙ СТРЕСС .....1070  
Сухарева Е.В., Егорова К.В., Калинина Т.С. , Дыгало Н.Н.1070
- ТРАНСЭТНИЧЕСКИЙ МУЛЬТИЛОКУСНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА .....1071  
Тимашева Я.Р., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Эрдман В.В., Заплахова О.В., Бахтиярова К.З., Мустафина О.Е.1071
- МОДЕЛИРОВАНИЕ СУДОРОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ НА ГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЯХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ .....1072  
И.Б. Федотова, Н.М. Сурина, И.И. Полетаева1072
- MOLECULAR MECHANISMS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER E(Z)* MUTANTS LONGEVITY.....1073  
Shaposhnikov M.V., Zemskaya N.V., Koval L.A., Schegoleva E.V., Guvatova Z.G., Krasnov G.S., Solovev I.A., Sheptyakov M.A., Kudryavtseva A.V., Moskalev A.A.1073
- ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ ГЕНОВ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER* .....1074  
Щеголева Е.В., Соловьев И.А., Москалев А.А.1074

ДОЛГОЛЕТИЕ, ИММУНОСТАРЕНИЕ И АУТОИМУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ: ПОИСК ВОЗМОЖНЫХ ОБЩИХ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ НА ПРИМЕРЕ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ .....	1075
Эрдман В.В., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Тимашева Я.Р., Заплахова О.В., Бахтиярова К.З., Мустафина О.Е.1075	
<b>Симпозиум XX: Селекция и биотехнология микроорганизмов / Symposium XX: Biotechnology and breeding of microorganisms .....</b>	<b>1076</b>
РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И СПЕКТР МУТАЦИЙ В ГЕНАХ <i>M. TUBERCULOSIS</i> , ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ МНОЖЕСТВЕННУЮ ЛЕКАРСТВЕННУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ НА ТЕРРИТОРИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ. ....	1076
Бережной С.А.1076	
ВЛИЯНИЕ ГЕНА <i>VACA HELICOBACTER PYLORI</i> НА КЛИНИЧЕСКИЕ ИСХОДЫ У ПАЦИЕНТОВ С ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В ЯКУТИИ .....	1077
Готовцев Н.Н., Барашков Н.А., Борисова Т.В., Пак М.В., Алексеева М.П., Иннокентьева Н.Н., Лоскутова К.С., Пшенникова В.Г., Рафаилов А.М., Леханова С.Н., Федорова С.А.1077	
СИСТЕМА РЕСТРИКЦИИ IV ТИПА – КЛЮЧЕВОЙ РЕГУЛЯТОР ГОРИЗОНТАЛЬНОГО ПЕРЕНОСА ДНК У БАКТЕРИЙ <i>PESTOBACTERIUM CAROTOVORUM</i> 3-2.....	1078
Дюбо Ю.В., Николайчик Е.А. 1078	
PhoP – КЛЮЧЕВОЙ РЕГУЛЯТОР ВИРУЛЕНТНЫХ СВОЙСТВ ФИТОПАТОГЕНА <i>PESTOBACTERIUM CAROTOVORUM</i> .....	1079
Кравченко У.А., Гоголева Н.Е., Гоголев Ю.В., Николайчик Е.А.1079	
ALTERNATIVE PATHWAYS OF L-ISOLEUCINE BIOSYNTHESIS IN <i>E. COLI</i> K-12 .....	1080
Крамор Р.В., Mamontov V.A., Plekhanova N.S., Stoynova N.V.1080	
ЭКЗОТОКСИНЫ ДРОЖЖЕЙ В ЭПОХУ БИОТЕХНОЛОГИЙ.....	1081
Музаев Д.М., Самбук Е.В.1081	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ ОКСИГЕНАЗ БАКТЕРИЙ - ДЕСТРУКТОРОВ ХЛОРАРОМАТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ.....	1082
Стариков С.Н. , Хафизова Л.М. , Сагитова А.И. , Якшидавлетова Л. И. , Чижкова А.П. , Галяутдинова Ю. А. , Маркушева Т.В. 1082	
УВЕЛИЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПРОМОТОРА ГЕНА <i>GAP</i> ДРОЖЖЕЙ <i>PICCHIA PASTORIS</i> ПРИ СВЕРХПРОДУКЦИИ СОБСТВЕННОГО АКТИВАТОРА ТРАНСКРИПЦИИ.....	1083
Цыганков М.А., Падкина М.В.1083	
THE CELLULOLYTIC ENZYMES SECRETED BY <i>TALAROMYCES CELLULOLYTICUS</i> STRAIN Y-94. ....	1084
Ptitsyn L.R. , Yampolskaya T.A.1084	
МИКРООРГАНИЗМЫ КАК КАТАЛИЗАТОРЫ БИОСИНТЕЗА НАНОЧАСТИЦ.....	1085
Войкова Т.А., Журавлева О.А., Дебабов В.Г.1085	
СКРИНИНГ ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ <i>Bacillus thuringiensis</i> , ОБЛАДАЮЩИХ ЭНТОМОЦИДНОЙ И АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ.....	1086
Гришечкина С.Д., Ермолова В.П., Антонец К.С., Нижников А.А.1086	
ОБРАЩЕННОЕ БЕТА-ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ – ГИБКАЯ БИОХИМИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО БИОСИНТЕЗА ШИРОКОГО СПЕКТРА ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ПРОМЫШЛЕННО ЗНАЧИМЫХ ХИМИКАТОВ .....	1087
Гулевич А.Ю., Скороходова А.Ю. , Дебабов В.Г.1087	
ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ШТАММА 800/15 БАКТЕРИИ <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> .....	1088
Ермолова В.П., Гришечкина С.Д., Антонец К.С., Белоусова М.Е., Яхно В.В., Нижников А.А.1088	
IMPROVEMENT THERMOSTABILITY OF CBHI FROM <i>TALAROMYCES CELLULOLYTICUS</i> . ....	1089
Yampolskaya T.A, Kutukova E.A, Ivanov I. Yu1089	

ПОЛНОГЕНОМНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ КАК ОСНОВА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ БАКТЕРИЙ .....	1090
Николайчик Е.А., Вычик П.В., Крук А.Н., Кравченко У.А., Дюбо Ю.В.1090	
ЛЕТУЧИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ, СИНТЕЗИРУЕМЫЕ БАКТЕРИЯМИ: НОВЫЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИЙ С ПРО- И ЭУКАРИОТИЧЕСКИМИ ОРГАНИЗМАМИ; УЧАСТИЕ В КОММУНИКАЦИИ БАКТЕРИЙ; МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ .....	1091
Плюта В.А., Попова А.А., Сидорова Д.Е., Мелькина О.Е., Завильгельский Г.Б., Кокшарова О.А., Хмель И.А.1091	
ВЛИЯНИЕ НАДФ <sup>+</sup> -ЗАВИСИМОЙ ФОРМИАТ ДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ <i>PSEUDOMONAS</i> НА ПРОДУКЦИЮ L-ЛИЗИНА В ШТАММАХ <i>CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM</i> .....	1092
Рябченко Л.Е., Леонова Т.В., Шустикова Т.Е., Герасимова Т.В., Яненко А.С.1092	
СМЕНА АКТИВНЫХ ВИДОВ ЛИГНИНРАЗРУШАЮЩИХ БАКТЕРИЙ В КОМПЛЕКСНОМ БИОПРЕПАРАТЕ БАРКОН ПРИ ЕГО ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ .....	1093
Свиридова О.В., Воробьев Н.И., Курчак О.Н., Онищук О.П., Пищик В.Н., Орлова О.В., Попов А.А.1093	
DEVELOPMENT OF BIDIRECTIONAL NUTRITIONAL MARKER SYSTEMS IN <i>TALAROMYCES CELLULOLYTICUS</i> .....	1094
Kutukova E.A., Slivinskaya E.A., Yampolskaya T. A.1094	
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ КАТАБОЛИЗМА СТЕРЕОИДОВ У <i>NOCARDIOIDES SIMPLEX</i> ВКМ Ac-2033Д ПРИ ИНДУКЦИИ ФИТОСТЕРИНОМ .....	1095
Фокина В.В. , Донова М.В.,Штратникова В.Ю., Брагин Е.Ю.1095	
АНАЛИЗ ГЕНА БИОСИНТЕЗА МЕЛАНИНА У ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ЛЮЦЕРНЫ РАЗЛИЧНОГО ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ .....	1096
Чижевская Е.П., Онищук О.П., Курчак О.Н., Андронов Е.Е., Симаров Б.В.1096	
ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ RapA1, pssA и rosR НА ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК РИЗОБИЯМИ .....	1097
Лавина А. М., Чубукова О.В., Вершинина З. Р.1097	
<b>Тезисы постерных докладов круглых столов и ассоциированных мероприятий / Posters of Round Tables and Associate Symposiums and Conferences .....</b>	<b>1098</b>
ГЕНЕТИК – КОНСУЛЬТАНТ КАК КЛЮЧЕВОЕ ЗВЕНО РАЗВИТИЯ РЫНКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ....	1098
Дудурич В.В.1098	
ВИЗУАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОБРАЗОВ РАСТЕНИЙ КАК РЕСУРС ИНФОРМАЦИИ ПО ИСТОРИИ И АРХЕОГЕНЕТИКИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ .....	1100
Цаценко Л. В., Савиченко Д. Л.1100	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ПРИ СОЗДАНИИ СЕЛЕКЦИОННЫХ ФОРМ КАРТОФЕЛЯ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ОСНОВНЫМ ПАТОГЕНАМ .....	1101
Антонова О.Ю., Балкин Н. А., Веселков А. О., Газизов К. И., Денискин Д. А., Денисов Н. Е., Константинов Н. О., Лапаева О. В., Хибиев И. Р., Шамшев А. А., Шарипова Э. Р., Клименко Н.С., Лебедева В.А , Гаджиев Н.М., Гавриленко Т.А.1101	
ПРЕДПОЧТЕНИЯ ВРАЧЕЙ В ВЫБОРЕ МЕТОДОВ РАННЕГО ПРЕНАТАЛЬНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В РОССИИ .....	1102
Ижевская В.Л., Жученко Л.А., Заяева Е.Е., Баранова Е.Е., Иванова Л.Ю.1102	
ОСОБЕННОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ ГЕНЕТИКИ НА КАФЕДРЕ БИОЛОГИИ ПЕРВОГО МГМУ ИМ. И.М.СЕЧЕНОВА .....	1103
Чебышев Н.В., Кузин С.М., Беречикидзе И.А., Сахарова Т.В., Горожанина Е.С., Лазарева Ю.Б., Ларина С.Н., Строителева Н.Н.1103	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗНАНИЯ КАК ФУНДАМЕНТ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ .....	1104
Корженевская М.А. , Лаптиева С.А. , Розенфельд С.В.1104	

- СОЗДАНИЕ ВЕКТОРОВ ДЛЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОВ *WOX MEDICAGO TRUNCATULA* ..... 1105  
Ашмарина А. О., Баранова Д.В., Демина Д.С., Красильников М.В., Мукебенова П.К., Перевалова Е.А., Пигиданов А.А., Погорелов Д.И., Сизова А.С., Сундеева М.А., Ефремов А.М., Творогова В.Е., Матвеевко А.Г.1105
- РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА КРАСНОЗЁРНОСТИ РИСА, ОСНОВАННАЯ НА ПРИМЕНЕНИИ ДНК-МАРКИРОВАНИЯ ..... 1106  
Алексеев В.И., Бобкова А.А., Валеева К.И., Каракулина К.О., Ковязина Л.Э., Копытова А.А., Лешукова А.Е., Сагова А. А., Садкова А.Н., Шулакова Е.С., Ефремов А.М., Творогова В.Е., Мухина Ж.М., Матвеева Т.В.1106
- АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *MLO1* И *LYKX* ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАБОРА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ МУТАЦИЙ SURVEYOR MUTATION DETECTION KIT ..... 1107  
Жуков В.А., Сулима А.С., Пайметьева Д.С., Раснюк Н.С., Мартынюк П.З., Зулкарнеев Ш.Р., Ведрова И.Н., Позднякова А.В., Крюкова П.А., Машкова С.Д., Молчанова В.А., Широкова М.Д., Тихонович И.А.1107
- СКРИНИНГ СОРТОВ И ГИБРИДОВ КАРТОФЕЛЯ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ *RB/RPI-BLBI/RPI-STO1* ..... 1108  
Клименко Н.С., Антонова О.Ю., Евдокимова З.З., Костина Л.И., Гавриленко Т.А.1108
- СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ АСЕПТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ ..... 1109  
Хумуд Б.М.Х., Апанасова Н.В., Юдакова О.И.1109
- ПОЛИМОРФИЗМ КОЛЛЕКЦИИ «АРСЕНАЛ» И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В УЛУЧШЕНИИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ..... 1110  
Лапочкина И.Ф., Гайнуллин Н.Р.1110
- ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ КРАСНОЙ СМОРОДИНЫ (*Ribes rubrum* L.) ГЕНОФОНДА ВНИИСПК, ОРЕЛ ..... 1111  
Пикунцова А.В., Должикова М.А., Голяева О.Д.1111
- ЧУЖЕРОДНЫЕ ИНТРОГРЕССИИ У МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ: РАСШИРЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭКОНОМИЧЕСКИ ВАЖНЫХ ПРИЗНАКОВ ..... 1112  
Пшеничникова Т.А.1112
- ВЫЯВЛЕНИЕ ЛОКУСОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ К ТЕМНО-БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ, НА ОСНОВЕ АССОЦИАТИВНОГО КАРТИРОВАНИЯ ..... 1113  
Розанова И.В., Лашина Н.М., Ефимов В.М., Афанасенко О.С., Хлесткина Е.К.1113
- ПРОДУКТИВНОСТЬ И КАЧЕСТВО ЗЕРНА У ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ СЕЛЕКЦИИ НИИСХ ЮГО-ВОСТОКА ..... 1114  
Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Баранова О.А., Гультияева Е.И.1114
- ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АЛЛЕЛЕЙ *Sd2H* И *Sd3* ГЕНА *Bmy1* ВЫСОКОТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ  $\beta$ -АМИЛАЗЫ НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА ЯЧМЕНЯ ПИВОВАРЕННОГО ..... 1115  
Зубкович А.А., Давыденко О.Г., Луханина Н.В.Шимкевич А.М. Зубкович Н.В. Марчук О.В.1115
- ХАРАКТЕРИСТИКА СОРТОВ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПО АЛЛЕЛЯМ ГЕНОВ ПУРОИНДОЛИНОВ *Pina* И *Pinb* ..... 1116  
Долматович Т.В., Гриб С.И., Булойчик А.А., Лемеш В.А., Буштевич В.Н.1116
- ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ОБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ ИЗ ЭФИОПИИ ПО АДАПТИВНО ВАЖНЫМ ПРИЗНАКАМ ..... 1117  
Абдуллаев Р.А., Лебедева Т.В., Алпатьева Н.В., Чумаков М.А., Косарева И.А., Радченко Е.Е.1117
- ЭФФЕКТИВНОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО ОТБОРА ПО УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ ..... 1118  
Агаева Е.В., Беспалова Л.А., Давоян Э.Р., Агаев Р.А.1118
- ПРОДУКТИВНОСТЬ И КАЧЕСТВО ЗЕРНА У ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ СЕЛЕКЦИИ НИИСХ ЮГО-ВОСТОКА ..... 1119  
Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Баранова О.А., Гультияева Е.И.1119

ИСТОЧНИКИ ПОЛЕВОЙ УСТОЙЧИВОСТИ У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПШЕНИЦЫ К НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫМ БОЛЕЗНЯМ В ТАТАРСТАНЕ .....	1120
Василова Н.З., Асхадуллин Д.-л.Ф., Асхадуллин Д.-р. Ф., Зуев Е.В.1120	
СЕЛЕКЦИЯ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ В РОССИИ .....	1121
Гульятеева Е.И.1121	
ОПЫТ АГРОЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАСПОРТИЗАЦИИ СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В НАЦИОНАЛЬНОМ ЦЕНТРЕ ЗЕРНА ИМЕНИ П.П.ЛУКЪЯНЕНКО .....	1122
Кудряшов И.Н., Пономарев Д.А., Лысак Н.И., Беспалова Л.А.1122	
ПРОБЛЕМЫ УСТОЙЧИВОСТИ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР К НОВОМУ БАКТЕРИАЛЬНОМУ ПАТОГЕНУ ВИДА <i>XANTHOMONAS ARBORICOLA</i> .....	1123
Кырова Е.И., Игнатов А.Н. 1123	
АЛЛЕЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГЛИАДИНОКОДИРУЮЩИХ ЛОКУСОВ ХРОМОСОМ ПЕРВОЙ ГОМЕОЛОГИЧЕСКОЙ ГРУППЫ В СЕЛЕКЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НЦЗ ИМ. П.П. ЛУКЪЯНЕНКО .....	1124
Мельникова Е.Е., Букреева Г.И., Беспалова Л.А., Жук О.А.1124	
СЕЛЕКЦИЯ ЯРОВОГО И ОЗИМОГО ТИПА РАЗВИТИЯ <i>TRITICUM DICOCUM</i> (SCHRANKE) SCHUEBL .....	1125
Мудрова А.А., Яновский А.С., Беспалова Л.А.1125	
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В СЕМЕНОВОДСТВЕ .....	1126
Мельникова Е.Е., Беспалова Л.А., Букреева Г.И., Новиков А.В., Агаев Р.А., Кузилова Н.М.1126	
ASSAYING THE QUANTITATIVE PCR FOR THE CHARACTERIZATION OF WINTER WHEAT VARIETIES TO FUNGAL GRAIN INFECTION .....	1127
Orina A.S. , Gagkaeva T.Yu., Gavrilova O.P., Ablova I.B., Bepalova L.A.1127	
ОТДАЛЕННАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ В СОЗДАНИИ УЛЬТРАСКОРОСПЕЛЫХ ФОРМ ПШЕНИЦЫ .....	1128
Пузырная О.Ю., Беспалова Л.А., Агаева Е.В., Набоков Г.Д., Новиков А.В., Тархов И.С.,1128	
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ УСТОЙЧИВОСТИ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР К НАСЕКОМЫМ .....	1129
Радченко Е.Е.1129	
ВЫЯВЛЕНИЕ ЛОКУСОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ К ТЕМНО-БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ, НА ОСНОВЕ АССОЦИАТИВНОГО КАРТИРОВАНИЯ.1130	
Розанова И.В. , Лашина Н.М., Ефимов В.М., Афанасенко О.С., Хлесткина Е.К.1130	
<b>ИНФОРМАЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ СПОНСОРОВ / INFORMATION PAGES OF SPONSORS .....</b>	<b>1131</b>

# ТЕЗИСЫ ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ / ABSTRACTS OF PLENARY LECTURES

## 100 ЛЕТ КАФЕДРЕ ГЕНЕТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ С.- ПЕТЕРБУРГСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

Инге-Вечтомов С.Г.

*СПб филиал ИОГен РАН, кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ.*

*Россия. СПб, Университетская наб. 7/9*

*[ingevechtomov@gmail.com](mailto:ingevechtomov@gmail.com)*

Кафедра генетики С.Петербургского университета дважды сыграла ключевую роль в развитии генетики в нашей стране: в зарождении отечественной генетики и в ее восстановлении после периода лысенковщины. Первая кафедра генетики (генетики и экспериментальной зоологии) в нашей стране была основана в 1919 г в Петроградском университете Ю.А. Филипченко (1882-1930). Уже в 1913 г. он читает курс: «Учение о наследственности и эволюции», в 1920 г. организует лабораторию генетики в Петергофском естественнонаучном институте (ПЕНИ) Петроградского университета, а в 1921 г. организует Бюро по евгенике при КЕПС, которое было преобразовано в 1930-1933 г. в Институт генетики АН СССР во главе с Н.И.Вавиловым. В 1927 г. Филипченко командировал к Т.Х.Моргану в США Ф.Г.Добржанского, где в дальнейшем он стал «Генетиком №1». В 1932 г. в Университете была организована по инициативе Н.И.Вавилова вторая кафедра генетики: Генетики растений во главе с Г.Д.Карпеченко. Уже тогда начались гонения на отечественную генетику, завершившиеся её полным разгромом в 1948 г. Из университета были уволены все генетики и им сочувствующие, в том числе декан биофака М.Е.Лобашев и проректор Ю.И.Полянский, заведовавший кафедрой генетики животных в 1939-1941 г.

С 1957 г объединенной кафедрой генетики и селекции заведовал вернувшийся в университет М.Е.Лобашев, с именем которого связано возрождение генетики в ЛГУ и в нашей стране. Лобашев после окончания кафедры прошел при ней аспирантуру и одновременно был зачислен в Институт генетики АН СССР, где познакомился с Н.И.Вавиловым и работавшими там же Г.Дж.Мёллером и К.Бриджесом, одновременно преподававшими в университете. В 1935 г М.Е.Лобашев защитил кандидатскую диссертацию на тему «О природе действия химических факторов на мутационный процесс», высоко оцененную Г.Мёллером. Эти исследования позднее воплотилось в физиологической гипотезе мутационного процесса (докторская диссертация М.Е.Лобашева 1946 г., защищенная вскоре после его возвращения из армии), в которой он первым в мире поставил рядом понятия «мутация» и «репарация». Вернувшись на кафедру в 1957 г. М.Е.Лобашев развивал ряд оригинальных научных направлений, издал первый послелысенковский учебник генетики (1963, 1967). В 60-е гг на кафедре было уже три специализации: генетика животных, растений и микроорганизмов. Современные направления работы кафедры будут представлены на круглом столе по истории генетики.

## ANTIPRION SYSTEMS STUDY REVEALS A NEW VAST ARRAY OF PRION VARIANTS

Wickner R.B., Edskes H. K., Bezsonov E. E., Son M., Dewilde M., Wu S.

*Laboratory of Biochemistry and Genetics, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892-0830, U.S.A.*

The yeast prions [PSI<sup>+</sup>] and [URE3] are based on amyloids of Sup35p and Ure2p, respectively, with a folded in-register parallel beta sheet architecture. We have systems in normal cells that eliminate nearly all [PSI<sup>+</sup>] and [URE3] prion variants as they arise. Mutations in any one system results in massively elevated frequencies of prion generation, with most of the prion variants arising unable to propagate in normal cells.

Btn2p and Cur1p work with Hsp42p to cure [URE3]. Btn2p acts by sequestering Ure2p amyloid filaments at one place in the cell, preferentially eliminating [URE3] variants with low seed number. Btn2p and Cur1p, at their normal levels, eliminate >90% of [URE3] variants arising in their absence. Normal levels of Upf1p, Upf2p and Upf3p (nonsense mediated decay proteins) cure nearly all [PSI<sup>+</sup>] prions arising in their absence via a complex they form with each other and normal Sup35p. Hsp104 is needed for propagation of [PSI<sup>+</sup>] and [URE3] by cleaving filaments to generate new amyloid seeds, but a distinct Hsp104 activity (at normal Hsp104 levels) cures most [PSI<sup>+</sup>] prion variants as they arise. Like the ability of overproduced Hsp104 to cure all [PSI<sup>+</sup>] variants, this activity involves Hsp90s and their co-chaperones. There is no correlation of 'strong' vs 'weak' [PSI<sup>+</sup>] variants with whether they are cured by normal levels of Hsp104. Inositol pyro/polyphosphates are needed by most [PSI<sup>+</sup>] variants for their propagation, and an inositol 5-pyrophosphatase, by limiting the amount of 5-PP-IP<sub>5</sub>, prevents the propagation of many [PSI<sup>+</sup>] variants that can only propagate with the higher amount of 5-PP-IP<sub>5</sub>. All of the above systems cure prions without overproducing or deleting anything. We call this curing happening in normal cells the action of "anti-prion systems".

We have shown that the Hsp104 antiprion activity does not require Btn2p, Cur1p or Hsp42p. In addition, the requirement of [PSI<sup>+</sup>] for inositol poly/pyro-phosphates is independent of the Hsp104 anti-prion activity. The prion variants stabilized by mutation of one anti-prion system are (evidently) immune to elimination by all the other systems. This expands on the already great multiplicity of prion variants, many of which do not fall into the simple "strong" vs "weak" paradigm. Work is underway to further examine the relation of the various anti-prion systems, their components and the variants cured by each.

### References:

- 1) Kryndushkin, D.; Shewmaker, F.; Wickner, R.B. Curing of the [URE3] prion by Btn2p, a Batten disease-related protein. *EMBO J.* 2008, 27, 2725–2735.
- 2) Wickner, R.B.; Bezsonov, E.; Bateman, D.A. Normal levels of the antiprion proteins Btn2 and Cur1 cure most newly formed [URE3] prion variants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2014, 111, E2711–E2720.
- 3) Son, M.; Wickner, R.B. Nonsense-mediated mRNA decay factors cure most [PSI<sup>+</sup>] prion variants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2018, 115, E1184–E1193, doi:201717410.201711073/pnas.1717495115.
- 4) Gorkovskiy, A.; Reidy, M.; Masison, D.C.; Wickner, R.B. Hsp104 at normal levels cures many [PSI<sup>+</sup>] variants in a process promoted by Sti1p, Hsp90 and Sis1p. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2017, 114, E4193–E4202.
- 5) Wickner, R.B.; Kelly, A.C.; Bezsonov, E.E.; Edskes, H.E. Prion propagation is controlled by inositol polyphosphates. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2017, 114, E8402–E8410.

## GENETIC INSTABILITY RESULTING FROM DEFECTIVE DNA REPLICATION IN YEAST

Petes T. D.

*Department of Molecular Genetics and Microbiology, Duke University, Durham, NC 27710.*

Although almost all cancer cells have greatly elevated rates of genome instability, different types of tumors often have different types of instability including: elevated rates of chromosome rearrangements (deletions, duplications, translocations), mitotic recombination, and point mutations. One likely source of instability is DNA replication stress. We previously showed that yeast cells with reduced levels of replicative DNA polymerases had increased levels of mitotic recombination, deletions/duplications, translocations, and aneuploidy. Using yeast strains that express APOBEC (a protein that catalyzes the deamination of C in single-stranded DNA), we show that these strains have greatly elevated amounts of single-stranded DNA. In strains with reduced amounts of DNA polymerase alpha or delta, the single-stranded regions are concentrated on the lagging strand template of the replication fork, whereas in strains with low levels of DNA polymerase epsilon, the single-stranded regions are found on both leading and lagging strand templates. The pattern of mutagenesis suggests that some of the single-stranded regions are greater than 10 kb in size.

We previously engineered a wild-type yeast gene (*URA3-GC*) to have an unusually high GC content. This gene had a high rate of mutations, as well as elevated mitotic and meiotic recombination. We identified a mutation (*met18*) that further elevates the rate of mutations in *URA3-GC* by about 100-fold; almost all of these mutations are small deletions flanked by short direct repeats. The Met18p is involved in the transport of Fe-S clusters into multiple cellular proteins, including the replicative DNA polymerases. I will describe our preliminary evidence that the mutator phenotype associated with the *met18* mutation is a consequence of increased DNA polymerase slippage of DNA polymerase delta when it lacks the Fe-S cluster.

## GENETIC TOOLS OPEN NEW WINDOWS IN RHIZOBIUM RESEARCH

Lindström K.<sup>1</sup>, Aserse A.A.<sup>1</sup>, Li H.<sup>1</sup>, Mousavi S.A.<sup>1</sup>, Yan L.<sup>1</sup>, Penttinen P.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>University of Helsinki, Finland; <sup>2</sup>Zhejiang A&F University, Lin'an, Hangzhou, China

[kristina.lindstrom@helsinki.fi](mailto:kristina.lindstrom@helsinki.fi)

Rhizobia are soil bacteria with the capacity to induce root nodules on legume plants, leading to a nitrogen-fixing symbiosis of great importance for agriculture and food security. Molecular tools such as whole-genome sequencing, have impacted research in this field especially regarding phylogeny, taxonomy and evolution of rhizobia and the symbiosis. As a consequence, the number of bacterial species described among the root-nodule bacteria increased from nine in four genera in 1991 to more than 200 in 18 genera today. There is now general agreement in the bacterial systematics community that genome sequence data should be provided when describing a new species, and routine description of prokaryotic species based on their genomic sequence would fulfill all the requirements of the Nomenclatural Code. For screening and classification of larger collections of rhizobia, Multi Locus Sequence Analysis (MLSA) is excellent. We used the method to classify strains and species and delineate new genera, e.g. *Neorhizobium* and *Pararhizobium*, and for the description of novel species.

Selection of elite inoculant strains for cultivated legumes is crucial for sustainable agriculture. Those should be effective and competitive in field conditions. To measure competitiveness, assessment of nodule occupancy is important. Genes *recA* and *rpoB*, the most commonly used genes for MLSA have good databases available for sequence comparisons. Methods were developed in our laboratory for molecular identification of inoculant and indigenous strains based on *rpoB*.

Many rhizobia carry out denitrification, but only some can reduce the greenhouse gas nitrous oxide to N<sub>2</sub> gas. Genome sequences can reveal the presence or absence of genes encoding denitrification and other ecologically important properties. We applied this approach to the study of peanut bradyrhizobia to complement plant testing in strain selection. We also found that *Neorhizobium galegae* sv. *orientalis* strains, isolated from the gene center in the Caucasus, and with very good N<sub>2</sub> fixation capacity, carried genes involved in NO destruction, indicating that reduction of NO levels in the nodule might improve the effectiveness of nitrogenase. To increase sustainability in food production, a combination of traditional and molecular methods should be applied, including characterization of soil microbial communities by amplicon sequencing and metagenomic analyses, which will also be presented.

## REVERSE GENETICS AND CYTOKINES

Nedospasov S.A.

*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, Russia.*

Technologies of reverse genetics allow to generate organisms with desired genetic modifications. Cytokines represent a molecular language of communications between different cells which is particularly important for immune regulation but it also plays multiple roles outside of immune system. There are more than 100 distinct cytokines, and reverse genetics has helped to identify unique and *non-redundant* functions for most of cytokines, even for those that are members of the same family. Our laboratory is focusing on physiological functions of TNF and of closely related cytokine, lymphotoxin. Our recent genetic data suggested a novel principle for anti-cytokine therapy which in case of TNF is being evaluated in humanized mice using bi-specific mini-antibodies consisting of VHH modules from *Camelids*.

## SITE-DIRECTED GENOME MODIFICATION IN CEREALS USING CAS ENDONUCLEASE TECHNOLOGY

Kumlehn J.

*Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben,  
Plant Reproductive Biology, 06466 Seeland, OT Gatersleben, Germany,*

[kumlehn@ipk-gatersleben.de](mailto:kumlehn@ipk-gatersleben.de)

Site-directed genome modification triggered by RNA-guided Cas endonucleases offers novel possibilities for the elucidation of gene functions and the improvement of crop performance. Targeted mutagenesis has been exemplified in many crop species and is now being routinely used world-wide to produce knock-out lines. In our lab, a modular and versatile vector system has been developed that allows for the simultaneous expression of multiple guide RNAs. Moreover, newly emerging elements such as Cas derivatives with improved or novel functionality can be readily tested and utilized. In addition, we have been successfully pursuing strategies to achieve not only much reduced dependency on model genotypes but also the generation of mutants without the necessity of genomic integration of gRNA/Cas9-encoding sequences. We further showed that the multiple mutations carried by the typically chimeric primary mutants can be perfectly separated and fixed by producing doubled haploid progeny. Amongst others, we are using this powerful technology in barley and wheat to generate plants with enhanced yield potential due to modified plant morphology, with resistance to viral and fungal pathogens as well as with improved product quality. However, the precise editing of plant genomes using synthetic repair templates implemented by homology-directed DNA repair remains a serious challenge, because such repair events are only very rarely occurring.

## ГЕНЕТИКА, БИОИНФОРМАТИКА, СИСТЕМНАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ БИОЛОГИЯ

Колчанов Н.А.

*Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН*

В последнее десятилетие в мировой генетике происходит информационный взрыв. По имеющимся оценкам к 2025 году объем геномных данных в области фундаментальной биологии, биомедицины, биотехнологии, агrobiотехнологии превысит в несколько раз объем данных в астрономии и социальных сетях. Необходимость быстрого и глубокого анализа больших генетических данных для решения научных и практических задач в области живых систем привела к широкому использованию методов биоинформатики, системной компьютерной биологии, искусственного интеллекта и машинного обучения. В докладе рассмотрено применение этих подходов к решению таких задач, как: (а) интеграция, анализ и интерпретация геномных, транскриптомных, протеомных, метаболомных данных; (б) идентификация сайтов связывания транскрипционных факторов в регуляторных районах генов, оценка влияния мутаций в этих регуляторных районах на экспрессию генов; (в) реконструкция генных сетей, выявление молекулярно-генетических механизмов формирования патологий, поиск генов, вносящих максимальный вклад в формирование целевых фенотипических (клинических) признаков, контролируемых генными сетями и на этой основе - предсказание наиболее перспективных мишеней для терапии заболеваний; (г) изучение реконструкция генетических механизмов регуляции морфогенеза растений, (д) анализ особенностей молекулярной эволюции генных сетей и молекулярно-генетических систем и (е) компьютерный дизайн экспериментов по созданию штаммов – суперпродуцентов биотехнологически значимых продуктов.

**Благодарности:** В.А. Иванисенко, М.П. Пономаренко, И.В. Чадаевой, Н.А. Алемасову, В.Г. Левицкому, В.В. Мироновой, Т.В. Иванисенко, Н.В. Иванисенко, С.А. Лашину.

## ENZYMATIC MACHINERY OF PROTEIN-BASED INHERITANCE

Chernoff Y.O.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Georgia Institute of Technology, USA, Atlanta, GA 30332-2000; <sup>2</sup>St. Petersburg State University, Russia, St. Petersburg 199034

[yury.chernoff@biology.gatech.edu](mailto:yury.chernoff@biology.gatech.edu)

Infectious protein isoforms (prions) cause human and animal diseases, and control heritable traits in yeast and other fungi. In most cases, prions are represented by non-covalent polymers (amyloids), composed of identical protein molecules, linked via intermolecular cross-beta structures. Pre-existing prion directs formation and location of beta-structures in the newly immobilized molecule, thus manifesting itself as a structural template. Therefore, prions transmit (either by infection or via inheritance) structural protein changes that are not encoded in DNA sequence. Mechanism of the formation of heritable prions is similar to mechanisms, involved in human prion and amyloid diseases (including Alzheimer's disease). This makes yeast a useful model for studying molecular foundations of amyloid diseases. Formation of yeast prions is stimulated by transient overproduction of respective proteins, resulting in their polymerization. The process of prion formation is also regulated by the chaperone proteins, involved in folding of newly synthesized polypeptides, and by cytoskeletal networks. Prion propagation depends on the fragmentation of prion polymers by chaperones, involved in the defense against stress. Fragmentation results in generation of oligomers, that immobilize new protein molecules and convert them into a prion form. Thus, prions employ the cellular stress defense machinery for their own replication. Dynamics and interactions of chaperones and other cellular proteins mediates effects of physiological and environmental conditions on prions. Metastable prions manifest themselves as carriers of the molecular memory of stress. Deciphering of the enzymatic machinery of prion formation and propagation is important for both counteracting amyloid diseases and understanding the role of protein-based inheritance in adaptation to environmental conditions.

**Acknowledgments:** This work was supported by grants MCB-1516872 and MCB-1817976 (National Science Foundation), P50AG025688 (National Institutes of Health), 14-50-00069 (Russian Science Foundation), and by project 15.61.2218.2013 (St. Petersburg State University), and performed with the help of Resource Centers "Biobank", "Chromas" and "Molecular and Cell Technologies" of St. Petersburg State University.

## HEREDITARY CANCER SYNDROMES

Imyanitov E.N., Iyevleva A.G.

*N.N. Petrov Institute of Oncology, St.-Petersburg, Russia*

Hereditary cancer syndromes represent an especial group of genetic diseases, whose clinical manifestations are limited to nearly fatal risk of emergence of certain tumors; the affected subjects remain phenotypically normal before the cancer onset. Population frequency of hereditary cancer mutations approaches to 2-3%. Hereditary cancers are characterized by young age at onset, multiple primary tumors and specific histological appearance of some neoplasms. Here we will present the results of our own studies on hereditary cancers. Slavic patients with hereditary cancers are characterized by unexpectedly pronounced founder effect. High frequency of recurrent cancer-predisposing mutations simplifies the diagnosis of hereditary tumors in Russia. Interestingly, some Slavic mutations are characterized by unusual phenotypic appearance of the associated disease. Our investigations provide evidence against the common viewpoint, which states that the somatic loss of the remaining allele of the involved gene is always the first event in the development of hereditary cancers. Some hereditary neoplasms differ from their sporadic counterparts with regard to molecular pathogenesis and therefore require essential modification of the treatment schemes. We will provide examples of clinical studies, which suggest novel approaches to cancer therapy.

*This work is supported by the Russian Science Foundation, grant 17-15-01384*

## GENEBANK COLLECTIONS - THE GENETIC BASIS FOR PLANT BREEDING AND RESEARCH

Börner A.<sup>1</sup>, Nagel M.<sup>1</sup>, Agacka-Mołdoch M.<sup>1,2</sup>, Börner M.<sup>1,3</sup>, Lohwasser U.<sup>1</sup>, Riewe D.<sup>4</sup>, Altmann T.<sup>1</sup>, Pshenichnikova T.A.<sup>5</sup>, Khlestkina E.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany; <sup>2</sup>Institute of Soil Science and Plant Cultivation, State Research Institute, Pulawy, Poland; <sup>3</sup>Enza Zaden, Research and Development B.V., Enkhuizen, The Netherlands; <sup>4</sup>Julius Kühn-Institut (JKI), Federal Research Centre for Cultivated Plants, Institute for Ecological Chemistry, Plant Analysis and Stored Product Protection, Berlin, Germany; <sup>5</sup>Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia; <sup>6</sup>Vavilov Centre for Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

[boerner@ipk-gatersleben.de](mailto:boerner@ipk-gatersleben.de)

Plant genetic resources play a major role for global food security. The most significant and widespread mean of preserving plant genetic resources is *ex situ* conservation. Today about 1,750 *ex situ* genebanks world-wide maintain 7.4 million accessions. One of the ten largest *ex situ* collections of our globe is located at the Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) in Gatersleben, Germany, conserving 150,000 accessions from 3,200 plant species and 780 genera. Since the majority of genebank holdings globally is maintained as seed, seed storability is of exceptional importance for germplasm conservation.

At IPK research on seed longevity was initiated for a range of crops and wild relatives stored over decades. Historical germination data accumulated during 35 years of seed germination monitoring were analysed to predict species specific seed longevities. The study considered 75 species comprising 79,075 accessions and 157,402 observations. Beside interspecific differences variation was also detected within species and genetic analyses were initiated in barley, wheat, oilseed rape and tobacco.

In addition, mass spectrometry based untargeted metabolite profiling experiments were performed in order to detect biochemical changes coinciding with loss in seed germination. GC-MS analysis of the polar metabolome of wheat and barley identified glycerol and related intermediates as highly correlated to germination rate. Therefore, the lipidomic composition of a wheat panel was investigated using high-resolution liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). A high proportion of tentative oxidized lipids was detected, suggesting lipid oxidation as the causal trigger for membrane degradation.

Beside research on seed storability genebank accessions and genetic stocks have been extensively used for genetic and genomic studies. Data on mapping of loci/marker trait associations for a range of different traits will be presented.

## GLOBAL VISION FOR BREAD WHEAT RESEARCH

Langridge P., Wheat Initiative, Berlin-Dahlem,  
*Germany and University of Adelaide, Australia*

Created in 2011 following endorsement from the G20 Agriculture Ministries, the Wheat Initiative provides a framework to establish strategic research and organisation priorities for wheat research at the international level in both developed and developing countries.

The vision of the Wheat Initiative is to support a vibrant global wheat research community sharing resources, capabilities, data and ideas to improve wheat land productivity, quality and sustainable production. To achieve this the Wheat initiative:

- ~ Provides a framework to establish strategic research and organisation priorities for wheat research at the international level in both developed and developing countries.
- ~ Fosters communication between the research community, funders and global policy makers.
- ~ Aims to secure efficient and long-term investments in wheat research.
- ~ Develops and coordinates knowledge sharing amongst the wheat community.
- ~ Improves access of all to resources, services and facilities.
- ~ Supports education of students and life-long learning of researchers and farmers
- ~ Stimulates public-private collaborations.

## БАКТЕРИИ С РЕДУЦИРОВАННЫМ ГЕНОМОМ: РАСКРЫВАЕМ ТАЙНЫ КОНТРОЛЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Говорун В. М.

ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА России (ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России), г.Москва

*Mycoplasma gallisepticum* S6 относится к бактериям класса Молликут, отличающихся значительной редукцией как самого генома, так и большинства известных систем регуляции. Однако это не мешает ей прекрасно адаптироваться к различным стрессовым воздействиям. Было проведено системное исследование функциональной организации и молекулярных механизмов адаптации бактерии *Mycoplasma gallisepticum* S6 в условиях теплового, окислительного и гиперосмотического стресса, включающее в себя получение подробной функциональной карты генома, транскрипционное, протеомное и метаболомное профилирование. Показано, что тепловой стресс в различных фазах роста бактерии *Mycoplasma gallisepticum* S6 вызывает значительные изменения транскрипционного профиля (538 генов), которые нельзя объяснить с точки зрения известных бактериальных систем регуляции. Получение подробной функциональной карты генома и измерение активности промоторов *Mycoplasma gallisepticum* S6 в условиях теплового стресса позволили установить структуру промотора *M. gallisepticum* и идентифицировать ряд слабых детерминант, совокупное воздействие которых в значительной степени определяет реакцию промотора на тепловой стресс. К таким детерминантам относятся: иницирующий нуклеотид, вариации в последовательности -10 бокса и GC-состав в районе промотора. Сравнительный качественный и количественный анализ представленности белков в условиях теплового стресса показал незначительные изменения белкового профиля, за исключением резкого снижения представленности гемагглютинаина VlhA, которое четко коррелирует со снижением его транскрипции. Таким образом, с одной стороны наблюдается значительное изменение транскрипционного профиля, а с другой – отсутствие соответствующего ответа на уровне протеома. Для объяснения этого несоответствия проведено профилирование рибосомально-связанной фракции мРНК и обнаружено избирательное связывание рибосом с мРНК при тепловом стрессе: большая часть синтезируемой в процессе стресса мРНК не связывается с рибосомами, при этом увеличивается представленность мРНК, кодирующей белки, которые блокируют иммуноглобулины.

Таким образом, можно с уверенностью заключить, что *M. gallisepticum*, в которой отсутствует большая часть известных бактериальных систем регуляции экспрессии генов, обладает набором других механизмов, одним из которых является избирательное связывание рибосомы с мРНК. Наблюдаемое увеличение представленности гемагглютинаина VlhA и представленности мРНК, кодирующей белки, блокирующие иммуноглобулины, указывает на связь между ответом бактерии на тепловой стресс и ее взаимодействием с организмом хозяина, при котором она использует механизмы, позволяющие избежать влияния иммунного ответа.

## ВКЛАД ГЕНЕТИКИ В МЕДИЦИНУ

Гинтер Е.К.

ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Россия, Москва,

ул. Москворечье, д. 1

[ekginter@mail.ru](mailto:ekginter@mail.ru)

Основной вклад генетики в медицину состоит в создании принципиальной новой этиологической классификации всех болезней человека, основанной на вкладе наследственных факторов в их возникновении. Первая группа, появилась и стала быстро расширяться в начале 20-го века – это менделирующие или моногенные наследственные болезни. Сейчас их насчитывается более 6000 и их число продолжает увеличиваться. Груз моногенных болезней в популяции не меньше, чем 1 на 200. Следующая группа – это хромосомные болезни, которые были открыты в середине XX века. Известно более 800 хромосомных синдромов, а число хромосомных болезней, описанных хотя бы один раз, во много раз больше. Груз хромосомных болезней в популяции составляет примерно 1%. В последние 20 лет выделены группа микрохромосомных болезней, выявляемых преимущественно методами молекулярной цитогенетики (генетики). Сейчас их насчитывается несколько десятков, но их число неуклонно растет. Следующий класс заболеваний, открытый медицинской генетикой – митохондриальные болезни. Собственно митохондриальных болезней, обусловленных мутациями в генах митохондриальной ДНК, примерно три десятка, но известны сотни митохондриальных болезней, гены которых расположены в ядре клетки. К наследственным заболеваниям следует отнести также рак, который может быть представлен как моногенными формами, так и формами, обусловленными мутациями соматических клеток. Вся остальная патология человека и, прежде всего вся частая хроническая патология, попадает в группу, в которой развитие заболевания зависит от взаимодействия предрасполагающих к развитию заболевания генов и факторов внешней среды, выполняющих роль спусковых механизмов. Начиная с 50-х годов прошлого века, поиск генов, обнаруживающих ассоциации с различными частыми заболеваниями приобретало все более широкий масштаб, как в отношении полноты поиска ассоциаций во всем геноме, так и в числе исследуемых заболеваний и размеров выборки больных и здорового контроля. Сейчас, по разным причинам объем этих исследований сократился. Значителен вклад генетики в медицинскую практику. Это и создание особой службы медико-генетического консультирования и разработка разнообразных методов ДНК диагностики различных групп заболеваний и формирование новых научных направлений, таких, например, как фармакогенетика и генотерапия. Следует также упомянуть вклад генетики в создание биопродуцентов биологически активных субстанций и лекарств, в том числе с помощью методов генной инженерии.

## THE GENOME RUSSIA PROJECT-2019

Obrien S. J., Zhernakova D. V., Brukhin V., Malov S., Oleksyk T. K., Koepfli K. P., Zhuk A., Dobrynin P., Kliver S., Cherkasov N., Tamazian G., Rotkevich M., Krashennnikova K., Evsyukov I., Sidorov S., Gorbunova A., Chernyaeva E., Shevchenko A., Kolchanova S., Komissarov A., Simonov S., Antonik A., Logachev A., Polev D. E., Glotov A. S., Ulantsev V., Noskova E Davydova., T. K., Sivtseva T. M., Limborska S., Balanovsky O., Osakovsky V., Novozhilov A., Puzyrev V.

The Russian Federation spans 11 time zones and is the home of ~146,000,000 people: 80% are the ethnic Russians and the remainder identify themselves as one of ~200 indigenous ethnic minorities. Despite the large population size and high ethnic diversity, no centralized reference database of functional and endemic genetic variation has been established to date. The national **Genome Russia Project** aims to perform high coverage whole genome sequencing and analysis of peoples of the Russian Federation. I shall describe our progress based upon resolving genome-wide variation (SNPs, indels, and copy number variation) from 264 healthy adults, including 60 newly sequenced samples consisting of family trios from three geographic regions: Pskov, Novgorod and Yakutia,. People of Russia are shown to carry known and novel genetic variants of adaptive, clinical and functional consequence that in many cases show appreciable occurrence or allele frequency divergence from the neighboring Eurasian populations. Population genetic phylogenetic analyses revealed strong geographic partitions among indigenous ethnicities corresponding to the geographic locales where they have lived. Allele frequency spectra identified strong constraints to gene flow corresponding to the geological barriers (e.g. the Ural Mountains and Verkhoyansk mountain range). These first conclusions of the Genome Russia Project include results important for medical genetics as well as for population natural history studies and are at present being extended with several hundred additional Russian genomes.

## **PARAMECIUM, A UNICELLULAR MODEL FOR GERMLINE-SOMA DIFFERENTIATION AND TRANSGENERATIONAL EPIGENETIC INHERITANCE**

Meyer E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut de Biologie de l'Ecole Normale Supérieure, France, Paris, 46 rue d'Ulm 75005  
emeyer@biologie.ens.fr*

Although they are unicellular eukaryotes, ciliates have evolved an original way to separate germline and somatic functions. Each cell contains two distinct types of nuclei, which both divide during vegetative growth. The diploid micronucleus (MIC) only serves sexual reproduction: it undergoes meiosis to produce gametic nuclei, but its genome is not expressed. The highly polyploid macronucleus (MAC) is a somatic nucleus which controls the phenotype through gene expression, but is not transmitted to sexual progeny. In each sexual generation, new MICs and MACs develop from copies of the zygotic nucleus formed by fertilization.

Among ciliates, sibling species of the *Paramecium aurelia* complex are ideally suited for genetic analyses. In these organisms, sex occurs either through conjugation between two cells of different mating types, a reciprocal fertilization event producing a pair of genetically identical offspring, or through autogamy, a self-fertilization process through which a single cell makes its genome entirely homozygous. In 1937, T. M. Sonneborn started breeding analyses and showed that some hereditary characters, including mating types, were not transmitted in a Mendelian manner but followed a “cytoplasmic” type of inheritance – which today would qualify as transgenerational epigenetic inheritance.

We now know that the MAC contains a heavily rearranged version of the MIC germline genome. During MAC development, all transposable elements are eliminated and numerous short, single-copy intervening sequences, believed to be degenerate transposon remnants, must be precisely excised to reconstitute functional genes. Molecular studies have identified the key proteins involved, and a piRNA-like class of small RNAs that control rearrangement patterns in a homology-dependent manner. Initially produced from the entire germline genome during meiosis, scnRNAs mediate a genomic subtraction with the maternal MAC genome, later allowing the zygotic MAC to reproduce the same deletions through the targeting of histone modifications. Although it likely evolved as an efficient strategy to control transposons, the system can easily be co-opted to regulate cellular genes in a heritable manner, as will be illustrated by the mechanisms of mating-type determination in *P. tetraurelia* and sibling species. These examples support the intriguing idea that the somatic genome can continuously evolve on its own to allow short-term adaptation, independently of any germline mutation.

## PROTEOME OF A HUMAN: WHAT FOR?

Ponomarenko E. , Lisitsa A., Archakov A.

*Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia*

*119121 Moscow Pogodinskaya 10*

*2463731@gmail.com*

Whole genome sequencing has revealed the number of protein-encoding genes in a given organism, which can be considered a first approximation of molecular complexity. Due to post-transcriptional and post-translational modifications such as RNA splicing, polymorphisms, covalent modifications and degradation, the total number of different protein species (the proteome) can be much larger than the number of protein-encoding genes. In spite of the fact that the international Human Proteome Project (HPP) was launched in 2010, the size of the human proteome, which depends upon the number of protein species (breadth) and the number of copies of an individual protein in a biosample (depth), has not been determined yet. The genome is limited by the number of protein-encoding genes (~20 100). However, the proteome is expanded taking into account modifications: we estimate, by using different methods of calculation based on the average number of variations per gene from NextProt, a range of 0.55-7.14 million protein species in the human body. How we can use this knowledge?

## ГЕНОМИКА И ЭПИГЕНОМИКА ФУНКЦИЙ И ПАТАЛОГИЙ МОЗГА

Рогаев Е. И.

*Институт Общей Генетики им Вавилова, Россия, Москва, 11999, Москва, ул. Губкина, д.3, Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1 Медицинская школа Массачусетского университета, США, Вустер*  
*rogaev@vigg.ru*

В докладе будут представлены недавние достижения в области исследования молекулярно – генетических основ эволюции, функций и нейropsychиатрических патологий мозга. Широкая индивидуальная вариабельность фенотипов, связанных с поведенческими характеристиками человека, может быть обусловлена как генетическими факторами, так и эпигенетическими факторами, на которые влияют условия раннего развития, старения или среда. Например, наследственность и поздний возраст являются главными факторами риска болезни Альцгеймера. Нами проведён анализ участков открытого хроматина (ChIP-seq) нейрогенома клеток кортекса от многих индивидов в сочетании с анализом последовательностей полных геномов (WGS) и транскриптомов (RNA-seq). Префронтальная кора (кортекс) головного мозга человека ответственна за когнитивные функции, абстрактное мышление и социальное поведение и, следовательно, представляет особый интерес для исследования эпигенетических факторов поведенческих характеристик. Но высокая клеточная гетерогенность тканей мозга усложняет такие исследования, поэтому для ChIP-seq анализа у каждого индивида были предварительно отобраны клеточные ядра нейронов. Были получены индивидуальные карты открытого хроматина нейронов, картируемого модифицированным гистонем H3K4me3. На основе интегративного анализа эпигенетических сигналов, картирующих участки активных промоторов генов и транскриптомов мозга человека, мы предсказали серию новых неаннотированных ранее нейрогенов (большая часть из которых – гены некодирующей РНК). Была показана индивидуальная специфичность эпигенетических профилей открытого хроматина в нейронах мозга, частично объясняемая генетической вариабельностью. Обнаружен пример эпигенетической активации “молчащего” гена в клетках мозга некоторых индивидов, обусловленной редким генетическим полиморфизмом [1]. Кроме того, выявлено, что пол влияет на эпигенетические сигналы в некоторых геномных локусах. Персонализированный генетический и эпигенетический анализ необходим для понимания механизмов вариабельности когнитивных способностей и выявления потенциальных терапевтических мишеней нейropsychических заболеваний.

1. Gusev, F. E., Reshetov, D. A., Mitchell, A. C., Andreeva, T. V., Dincer, A., Grigorenko, A. P., Fedonin, G., Halene, T., Aliseychik, M., Goltsov, A. Y., Solovyev, V., Brizgalov, L., Filippova, E., Weng, Z., Akbarian, S., Rogaev, E. I. Epigenetic-genetic chromatin footprinting identifies novel and subject-specific genes active in prefrontal cortex neurons. FASEB , 2019

## ТРАНСГЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ФАРМАКОЛОГИИ

Гайнетдинов Р.Р.

*Санкт-Петербургский государственный университет, Институт Трансляционной Биомедицины, Санкт-Петербург*

*gainetdinov.raul@gmail.com*

Одним из критических компонентов исследований в области трансляционной медицины является трансляция накопленных знаний по этиологии и патологии заболеваний полученными разнообразными методами, включающими в том числе генетический и протеомный анализ, в экспериментальные модели заболеваний человека на животных. В свою очередь, последующее изучение на этих моделях патологических процессов, идентификация потенциальных мишеней для терапевтического воздействия и поиск новых лекарственных средств должны транслироваться клинику в виде новых методов терапии. Таким образом, проблема создания наиболее адекватных экспериментальных моделей заболеваний человека на животных рассматривается как приоритетная в медицинских исследованиях. В связи с тем, что мыши, крысы, и люди имеют около 99% общих генов, грызуны являются прекрасной моделью для изучения функций человеческих генов и патологий. Манипулирование с их генами позволяет моделировать многие заболевания, описанные у человека. В ближайшие годы, использование генетически модифицированных мышей в качестве моделей болезней человека (с учетом определенных ограничений ввиду межвидовых различий) будет оставаться передовой областью исследований в доклинической фармакологии. Недавно появившаяся возможность создавать генетически модифицированных крыс является дополнительным фактором, который значительно повышает научную новизну и значимость этого направления. Будут представлены результаты исследований на трансгенных экспериментальных моделях нейропсихиатрических заболеваний, созданных в последние годы на основе направленных генетических изменений в ключевых компонентах дофаминовой, серотониновой и глутаматной систем мозга. Кроме того, будет показано применение трансгенных животных для понимания функции и фармакологии рецепторов следовых аминов TAARs.

## **BEYOND THE TIP OF THE ICEBERG: DISCOVERING MILLIONS MORE “HUMAN” GENES IN OUR MICROBIOMES AND THEIR LINKS TO PHENOTYPE**

**Knigh R.**

*University of California San Diego, United States of America, La Jolla  
robknight@ucsd.edu*

Human biology is undergoing a revolution. The majority of cells in and on our bodies are microbial rather than human in origin, and this 57% microbial majority contains nearly all of our 2-20 million unique genes. Driven by advances in DNA sequencing technology and computation, we are just beginning to understand what these genes are, how they are distributed, and how they impact our phenotype. Increasingly, for chronic diseases, associations between specific phenotypes and microbial genes can be stronger than associations between phenotypes and “human” genes, and the accuracy of machine learning classifiers built on these microbial genes can be considerably greater. Moreover, using methods such as transfer of microbes into gnotobiotic mice and by integrating metabolomics, we can begin to explore the mechanistic details of how these microbial genes have an impact on function throughout the human body: for example, microbes in the gut can affect the liver, the arteries, and even the brain. Here I summarize the remarkable progress in understanding this microbial side of ourselves over the past fifteen years including the Human Microbiome Project, the Earth Microbiome Project, and the American Gut Project/Microsetta, describing how from the first hints that the microbiome might be linked to obesity and to inflammatory bowel disease we now have a rich picture of its impact on the body. I also describe how this picture is still far from complete, and the potential for improved resolution and improved sampling frequency to exploit readouts of the microbiome to advance human health.

Acknowledgements: This work was supported in part by the NIH, NSF, DOE, DOD, Crohn’s and Colitis Foundation of America, the Bill and Melinda Gates Foundation, the Alfred P. Sloan Foundation, the W. M. Keck Foundation, the John Templeton Foundation, the Emerald Foundation, IBM, Janssen, Illumina, MoBio/QIAGEN, and tens of thousands of individual members of the public.

## РАЗВИТИЕ ГЕНЕТИКИ В БЕЛАРУСИ. РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

(Доклад на Пленуме ЦС ВОГиС и Научного Совета по генетике и селекции РАН в рамках VII Съезда ВОГиС)

Кильчевский А.В., Шейко Р.И.

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Республика Беларусь,  
220027, г. Минск, ул. Академическая, 27,  
kilchev@presidium.bas-net.by*

Генетические исследования в Беларуси проводятся по нескольким направлениям: изучение структурно-функциональной организации геномов; геновая инженерия; медицинская и спортивная генетика; разработка геномных технологий для повышения эффективности селекционного процесса растений и животных и природоохранной деятельности. Для населения Беларуси изучено влияние генетических факторов на формирование основных социально-значимых заболеваний (сердечно-сосудистые, остеопороз, сахарный диабет 2 типа, кардио-метаболический синдром и др.), митохондриальных синдромов и сенсоневральной тугоухости, невынашивания беременности и др. Изучается связь комбинаций полиморфных вариантов генов с предрасположенностью к возникновению рака, проводятся исследования по нутригеномике и генетике долголетия. Создаются фармакогенетические тесты для оптимизации дозировки лекарственных препаратов (антикоагулянты, антипсихотики). Ведутся многоплановые исследования по поиску генетических детерминант хозяйственно-полезных признаков, генетической оценке и ДНК-паспортизации сортового генофонда растений и поголовья животных для повышения эффективности селекции. Сформированы наборы ДНК-маркеров для маркер-сопутствующей селекции 16 сельскохозяйственных культур (пшеница, тритикале, рожь, картофель, томат, люпин, перец, капуста, рапс, подсолнечник, соя, лен, кукуруза, яблоня, груша, лисохвост луговой) и сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, свиньи, лошади). Генетическая паспортизация применяется для контроля происхождения племенных животных крупного рогатого скота и свиней, установления видовой принадлежности осетровых и лососевых рыб, продукции из них. С помощью геномных подходов изучается генетическая структура популяций диких животных и растений, проведена оценка генетического разнообразия ботанических коллекций. На основании результатов секвенирования прокариотических геномов создаются генно-инженерные бактериальные штаммы-сверхпродуценты, разрабатываются диагностические тест-системы. Ключевую роль во внедрении геномных биотехнологий в практику играет Республиканский центр геномных биотехнологий. Создан Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов (более 12 тысяч образцов). Обсуждаются результаты выполнения программы Союзного государства «ДНК-идентификация» и совместных исследований по проектам БРФФИ-РФФИ в области генетики, а также перспективы сотрудничества с российскими коллегами.

# ТЕЗИСЫ ВЕЧЕРНИХ ЛЕКЦИЙ / ABSTRACTS OF EVENING LECTURES

## SYMBIOGENESIS, EVOLUTION AND ENERGY

Martin W.F.

<sup>1</sup>*Institute for Molecular Evolution, University of Düsseldorf, Germany, D-40225 Düsseldorf  
w.martin@hhu.de*

The concept of symbiogenesis in cell evolution was introduced into the biological literature in 1905 by Konstantin Mereschkowsky. In its most general formulation, the theory of symbiogenesis posits that in microbial evolution, and only in microbes, the endosymbiotic combination of two cells into one forges novel taxa at highest ranks [1]. For 60 years following Mereschkowsky's initial proposal, the basic tenet of symbiogenesis that organelles arise through endosymbiosis is true, because mainstream evolutionary thinking scorned the idea as absurd. Since the 1960s, evidence from organelle genomes has left no doubt that chloroplasts and mitochondria are indeed descended from endosymbiotic bacteria. That did not end the debate, it just changed its focus. At the center of current debate is the evolutionary significance of mitochondrial origin and the role of mitochondria in eukaryogenesis. Different ideas about eukaryote origin currently coexist in the literature that weigh the evolutionary significance of mitochondria differently. Gradualist theories depict the origin of eukaryotic cell complexity and the origin of mitochondria as independent, unrelated processes with complexity coming first. Symbiogenic theories depict the origin of eukaryotic cell complexity as emerging from the symbiosis that gave rise to mitochondria, with mitochondria preceding complexity. The aspect of symbiogenesis to which gradualist views have greatest difficulty is that symbiogenesis operates discontinuously and very rarely during evolution. In contrast to computationally tractable micromutations, symbiogenesis does not occur at regularly recurring frequencies. Moreover, when it does occur, major evolutionary transitions are the outcome — the origin of eukaryotes, plants, and algal groups with complex plastids. The gradualist view has it that this is pure coincidence. The symbiogenic view has it that symbiogenesis is itself a mechanism of evolution that i) generates new physiological compartments within cells, ii) combines host and symbiont physiology in such a way as to generate novel complexity, and iii) combines extremely divergent genomes into a single cellular context. Symbiogenesis combines novel organelle bioenergetics with genetic merger. That begs the question of how bioenergetics arose in the first place [2] and that in turn begs the question about sources of energy at the origin of life [3]. Life is a chemical reaction, from what chemical reaction did it start?

[1] Martin W.F., Symbiogenesis, gradualism and mitochondrial energy in eukaryote evolution. // 2017, *Period. Biol.* V.119, P.141-158.

[2] Martin W.F., Physiology, phylogeny, and the energetic roots of life. // 2016, *Period. Biol.* V. 118, P.343-352.

[3] Martin, W.F. and Thauer, R.K., Energy in ancient metabolism. // 2017, *Cell* V.168, P.953-955.

**Acknowledgements:** This work was supported by the ERC, the VW Foundation and the DFG.

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ КАК ИСТОКИ И ПРЕДЕЛЫ СУЩЕСТВОВАНИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА

Янковский Н. К.

*академик РАН, научный руководитель Института общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Москва 119991, ГСП 1, ул. Губкина, 3.*

[yankovsky@vigg.ru](mailto:yankovsky@vigg.ru)

Предки человека и шимпанзе произошли от единого вида около 6 млн лет назад в Африке. Около миллиона лет назад человек как вид освоил огонь и обитал уже и в Передней Азии – там найдены очаги для приготовления пищи. Семьсот тысяч лет назад сформировалась группа людей, которые навсегда ушли из Африки и разделились на две ветви («денисовский человек» и «неандертальцы»), расселившиеся по всей Евразии. Ветвь современного человека (*Homo sapiens*) сложилась в Африке 120-200 тыс. лет назад и затем также заселила Евразию. В течение десятков тысяч лет представители всех трех ветвей человека жили во многих местах Евразии в соседстве друг с другом. Пары индивидов каждой из этих трех ветвей человека во всех сочетаниях производили жизнеспособное гибридное потомство – сейчас это мы сами и есть. У современных европейцев до четырех процентов генома (генетический текст, представленный молекулой ДНК) имеет неандертальское происхождение, а почти пятая часть генома современных филиппинцев получена когда-то от денисовцев. Современный человек впитал полезные мутации всех трех ветвей, позволившие ему заселить планету от экватора до высоких широт на всех континентах.

Около 10 тысяч лет тому назад человек в разных местах мира одомашнил сначала растения, а через несколько тысяч лет и животных. Урожай возделываемых растений выше и стабильнее чем у дикоросов и это ускорило рост численности населения. Посев, сбор и хранение урожая привели к оседлости, а это сократило в два раза период между родами и население стало расти еще быстрее. За 10 тысяч лет нас стало более 7.5 млрд. человек, и чтобы прокормить себя мы засеваем почти половину земли доступной для земледелия. Урожайность будет расти, но этому есть предел. Численность человечества расти продолжает. Есть ли этому предел нам предстоит узнать. 800 млн. человек в мире голодают. 13 млн. человек в год умирает от голода. Это вторая по частоте причина смерти в мире (первая – сердечно-сосудистые, третья – рак). Если бы численность человечества выросла вдвое сейчас, то нам пришлось бы засеять остающуюся пока свободной половину пашни. Другой пашни на земле нет. Перспектива – тотальный голод как предел существования человеческого общества?

Выходом является получение органического вещества из углекислого газа воздуха вообще без пашни и света. Энергия для этого тоже конечно нужна, но вместо фотона света можно использовать электрон «из розетки». Это умеют делать некоторые бактерии, растущие прямо на катоде, погруженном в раствор солей. Продукция органики при этом в расчете на электрон на порядок выше, чем у растений в расчете на фотон. Это дополнительный путь производства пищи. Сегодняшние источники энергии не позволяют производить такую пищу рентабельно, но наука, вероятно, может их создать! Возможно, сначала это будет пища для животных, а может быть и для самих растений. Генная инженерия на определенных бактериях уже сейчас позволяет сконструировать путь синтеза практически любой «съедобной» молекулы из углекислого газа, что занимает, правда, много лет. Но если это вопрос выживания человечества, то не пора это новое направление науки поддержать?

Другим выходом является сокращение и остановка роста численности человечества. Происходит ли это? Если да, то когда этот процесс закончится? Все ли страны и народы захотят и смогут пойти по этому пути? Умрем ли мы сначала от голода? Создадим ли новый вечный хлеб? Или станем первым видом на земле, которому всего хватает, а он сам решил и смог прекратить свой рост? Ведь все мы хотим, чтобы Земля для наших потомков была вечной, а не кончилась до них.

# ТЕЗИСЫ СИМПОЗИАЛЬНЫХ ДОКЛАДОВ / ABSTRACTS OF TALKS

## Симпозиум I: Репликация, транскрипция, трансляция / Symposium I: Replication, Transcription, Translation

### RESILIENCE OF REPLICATION MACHINERY IN EUKARYOTES

Павлов Ю.И.

*Институт изучения рака им. Энпли, Медицинский центр Университета Небраски, Омаха  
68198, США*

[ypravlov@unmc.edu](mailto:ypravlov@unmc.edu)

Multi-subunit complexes of eukaryotic DNA polymerases (pols) of the B-family play a central role in accurate genome replication. Mutations leading to changes in catalytic subunits that result in the low fidelity of these pols are strong mutators and are linked to the development of hypermutated tumors. Mutations disrupting interaction of pol domains and subunits also lead to elevation of mutation rates and are found in tumors. Heterozygous mutations abolishing the catalytic activity, or homozygous mutations severely decreasing levels of these indispensable pols, are surprisingly not lethal and cause multisystem congenital disorders. We postulate that effects of pol mutations of genome stability could be direct, altering properties of pol catalytic activity, or indirect, requiring a reorganization of the replication fork. We study the roles and functions of pols in normal and aberrant replication by genetic approaches examining what happens when a part of the replication machinery is missing. We developed a model system in yeast to robustly create and study the effects of any types of pol mutations, including those that might cause lethality or severely decrease fitness. We examine the mechanisms of the biological effects of the strategic mutations chosen based on structural and biochemical data or connected with diseases, especially cancer, by a combination of whole genomic sequencing and genetic analysis. The list includes deletions of N-terminal parts and interdomain linkers of the catalytic and second subunits of pol  $\alpha$ /primase; point mutations affecting the  $Zn^{2+}$  or Fe-S cluster binding of pols  $\delta$ ,  $\epsilon$  and  $\zeta$ ; deletions of N-terminal, catalytically active half of pol  $\epsilon$  and C-terminal part of the catalytic subunit of pol  $\zeta$ . We have found that even large deletions in pol genes could be tolerated by cells and often after several divisions fast growing clone emerge. We discuss the mechanisms leading to the restoration of the viability of cells harboring deleterious pol mutations.

## ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ Y-СЕМЕЙСТВА В РЕПЛИКАЦИИ ПОВРЕЖДЕННОЙ ДНК

Болдинова Е.О., Шилкин Е.С., Миропольская Н.А., Петушков И.В., Макарова А.В.,  
Институт молекулярной генетики РАН, Россия, Москва, пл. ак. Курчатова 2 123182;  
[amakarova-img@yandex.ru](mailto:amakarova-img@yandex.ru)

Транслезионные ДНК-полимеразы Y-семейства Pol  $\iota$  и Pol  $\eta$  эффективно включают нуклеотиды напротив целого ряда повреждений ДНК, но обладают очень низкой точностью синтеза. Важной функцией Pol  $\eta$  является защита клеток от УФ излучения и синтез на матричной ДНК, содержащей Т-Т циклобутановые димеры. Благодаря низкой точности включения нуклеотидов Pol  $\eta$  также участвует в соматическом гипермутационном процессе при созревании генов Ig. Точные функции Pol  $\iota$  в клетках не ясны. Необычной особенностью Pol  $\iota$  является использование неканонических Хугстиновских взаимодействий при включении нуклеотидов.

Была охарактеризована активность Pol  $\iota$  человека и Pol  $\eta$  *S. cerevisiae* дикого типа и набора их мутантных вариантов на неповрежденных ДНК-матрицах и ДНК-субстратах, содержащих распространенные повреждения ДНК: АП-сайты, Т-Т димеры, 8-охо-G, тимидин гликоль и этеноаденин. Были идентифицированы консервативные остатки домена fingers Pol  $\iota$  и Pol  $\eta$ , играющие ключевую роль в селекции нуклеотидных субстратов при катализе на ДНК-матрицах разной структуры. Многие точечные мутации активного центра Y-ДНК-полимераз снижали общую ДНК-полимеразную активность и специфически нарушали способность к транслезионному синтезу напротив ряда повреждений, но одновременно существенно повышали точность включения нуклеотидных субстратов на неповрежденной ДНК. Таким образом, необычные свойства ДНК-полимераз Y-семейства обусловлены особенностями строения их активных центров, а падение точности является «платой» за приобретенную в ходе эволюции способность к транслезионному синтезу.

Кроме ДНК-полимеразной активности Pol  $\iota$  обладает также 5'-дезоксирибозофосфат (5'-дРФ) лиазной активностью и, предположительно, может участвовать в эксцизионной репарации оснований. Анализ вариантов Pol  $\iota$  с заменами аминокислотных остатков в разных доменах и структурных мотивах выявил ключевую роль N-концевого района домена fingers в отщеплении 5'-дРФ. Показано, что популяционный полиморфный вариант Pol  $\iota$  с заменой R71G в домене fingers приводит резкому снижению ДНК-полимеразной и 5'-дРФ лиазной активностей Pol  $\iota$  *in vitro*. Проводятся исследования свойств R71G Pol  $\iota$  в культуре клеток человека.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ № 17-00-00264 и № 18-54-00024.

## ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ ЭКСТРЕМОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ *DEINOCOCCUS GOBIENSIS*

Никитин М.В.<sup>1</sup>, Простова М.А.<sup>1</sup>, Есюнина Д.М.<sup>1</sup>, Комар А.А.<sup>2</sup>, Кульбачинский А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной генетики РАН, Россия, Москва, пл. Академика Курчатова, 2;

<sup>2</sup> Center for Gene Regulation in Health and Disease and Department of Biological, Geological and Environmental Sciences, Cleveland State University, USA, Cleveland, OH, 2121 Euclid Ave;  
[nikitin.mv@bk.ru](mailto:nikitin.mv@bk.ru)

Бактерии рода *Deinococcus* известны своей устойчивостью к ионизирующему и УФ-излучению. Выживание в таких экстремальных условиях обеспечивают, в том числе эффективные системы репарации повреждений ДНК. Одним из ее компонентов являются специализированные ДНК-полимеразы X- и Y-семейств. Ранее показано, что полимеразы X-семейства из *D. radiodurans* участвует в репарации двунитовых разрывов, возникающих при воздействии гамма- и УФ-излучения [1], что говорит о роли этой полимеразы в радиационной устойчивости. Полимеразы Y-семейства в *D. radiodurans* обнаружено не было [2], однако она является компонентом SOS-системы, активируемой, в том числе и ультрафиолетом у *E.coli*. Вид *D. gobiensis*, изолированный в 2009 году из песка в пустыне Гоби, содержит в геноме оба типа специализированных полимераз X и Y и обладает еще большей толерантностью к радиации и ультрафиолету, чем *D. radiodurans* [3].

Целью данной работы является изучение функциональных особенностей ДНК-полимераз X- и Y-семейств *D. gobiensis*. Гены этих полимераз были оптимизированы для успешной экспрессии белков в *E. coli* в растворимой форме и клонированы в экспрессионный вектор. Были подобраны условия экспрессии и методика выделения целевых полимераз с использованием хроматографической очистки на аффинных носителях. Были проведены эксперименты по изучению зависимости работы полимераз от температуры и концентрации катионов  $Mg^{2+}$  и  $Mn^{2+}$  и показано, в частности, что ДНК-полимераза Y работает, не теряя активности, при сравнительно высоких концентрациях  $Mn^{2+}$  (до 10 мМ). Специфичность включения нуклеотидов и способность полимераз к прохождению различных повреждений ДНК была изучена в присутствии как  $Mg^{2+}$ , так и  $Mn^{2+}$ . Создание набора рекомбинантных PolX и PolY, содержащих различные аминокислотные замены, позволило изучить неканонические активные центры этих полимераз. Эти исследования позволят лучше понять молекулярные механизмы функционирования специализированных ДНК-полимераз, вовлеченных в системы репарации ДНК рода *Deinococcus*.

[1]. Lecoite F., Shevelev I.V., Bailone A., Sommer S., Hübscher U., Involvement of an X family DNA polymerase in double-stranded break repair in the radioresistant organism *Deinococcus radiodurans*. // 2004, Molecular Microbiology, V.53, P.1721-173.

[2]. Lim S., Jung J.H., Blanchard L., de Groot A., Conservation and diversity of radiation and oxidative stress resistance mechanisms in *Deinococcus* species. // 2018, FEMS Microbiol. Rev., V.43(1), P.19–52.

[3]. Yuan M., Zhang W., Dai S., Wu J., Wang Y., Tao T., Chen M., Lin M., *Deinococcus gobiensis* sp. nov., an extremely radiation-resistant bacterium. // 2009, Int. J. Syst. Evol. Microbiol., V.59, P.1513-1517.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РНФ 17-14-01393

## PECULIAR INTERACTION OF REPLICATION FORK AND CHROMATIN STRUCTURE LEADING TO EXPANSION OF HUMAN TELOMERIC TRACTS

Aksenova A. Y. <sup>1,2</sup>, Radchenko E. A. <sup>1</sup>, Volkov K. V. <sup>2</sup>, Shishkin A. A. <sup>3</sup>, Pavlov Y.I. <sup>4</sup>,  
Mirkin S. <sup>1</sup>.

*1 Department of Biology, Tufts University, Medford, MA 02421, USA*

*2 Laboratory of Amyloid Biology, St. Petersburg State University, St. Petersburg 199034, Russia*

*3 The Broad Institute of MIT and Harvard, Cambridge, MA 02139, USA*

*4 Eppley Institute for Research in Cancer and Allied Diseases, Omaha, NE 68198, USA*

*aksena@gmail.com a.aksenova@spbu.ru*

Telomeres are nucleoprotein complexes that protect the ends of chromosomes. In humans, telomeric repeats (TTAGGG)<sub>n</sub> are also frequently found at internal chromosomal sites. These interstitial telomeric sequences (ITSs) are polymorphic in length and can act as hotspots for breakage and chromosomal rearrangements. Here, we studied the mechanisms responsible for the instability of interstitial human telomeric sequence (Htel) in a yeast experimental system. Htel repeats were cloned into an intron of the artificially split *URA3* reporter and their subsequent expansions resulting in reporter gene inactivation were monitored. We found that the propensity of Htel repeats to expand depended on an essential yeast protein Tbf1: it was physically bound to the repeat within the *UR-Htel-A3* cassette, and deletion within its insulation domain stabilized the repeat. Subsequent genetic screening revealed that histone-acetyltransferase complex Gcn5-Ada2-Ngg1, ubiquitin protease Ubp10, and chromatin remodelers INO80 and ISW1 prevented expansions, whereas histone deacetylases of the Sirtuin family, as well as chromatin remodeling complexes SWI/SNF and RSC promoted expansions. Finally, stability of interstitial Htel repeats appeared to depend on the vigor of replication machinery. The rates of Htel repeat expansions were decreased in strains with mutated replication genes, particularly strongly in DNA polymerase epsilon mutants. We propose that binding of the Tbf1 protein to the Htel tract changes local chromatin structure at Htel tract. Replication through this peculiar chromatin structure is compromised, which provokes multiple DNA strand slippages during leading strand synthesis and ultimately expansions of Htel repeats. The proposed model is of obvious biological significance, as length polymorphism of human ITSs has been implicated in several human genetic disorders and cancers. Importantly, the mechanisms responsible for ITSs length alteration share similarity with mechanisms influencing telomere length in some cancer tumors. We suggest that the mechanism proposed in our study has implications for the understanding of Alternative Lengthening of Telomeres (ALT) phenomenon.

This study was supported by RFBR grants #15-04-08658 and #18-04-00799 and research project in the Center for Molecular and Cell Technologies (Research Park, Saint-Petersburg State University) to A.Y.A. and by NIH grants R01GM60987 and P01GM105473 and by a generous contribution from the White family to S.M.M

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР Oст-1 В КОНТРОЛЕ ГЕНОВ И ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Георгиева С. Г., Панкратова Е.В., Степченко А. Г., Порцева Т. В.

*Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта*

*sonjag@molbiol.edu.ru*

Транскрипционный фактор Oст-1 выполняет различные функции в регуляции экспрессии генов. Уровень его экспрессии повышается при некоторых типах рака и связан с плохим прогнозом выживаемости. Мы идентифицировали различные изоформы белка Oст-1 в клетках человека и сравнили их паттерны экспрессии и гены, которые они контролируют в клетке. Высокий уровень изоформ Oст-1 активирует гены, связанные с прогрессированием клеточного цикла, и активирует пролиферацию как в клетках В-клеточной лимфомы, так и в первичных фибробластах человека. Он подавляет экспрессию генов, связанных с процессингом и презентацией антигена, взаимодействием цитокин-цитокينوвого рецептора, окислительным метаболизмом и адгезией клеток, тем самым способствуя про-онкогенным процессам.

Работа поддержана грантом РФФИ: 14-15-01032

## ШИРОКОМАСШТАБНЫЙ ПОИСК НУКЛЕОТИДНЫХ МОТИВОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ПРОЦЕСС ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Пиндюрин А.В.<sup>1</sup>, Болдырева Л.В.<sup>1</sup>, Иванкин А.В.<sup>1</sup>, Летягина А.Е.<sup>1,2</sup>, Омелина Е.С.<sup>1</sup>,  
Яринич Л.А.<sup>1,2</sup>, Лебедев М.О.<sup>1,2</sup>, Кожевникова Е.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, пр-т акад.  
Лаврентьева 8/2; <sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул.  
Пирогова, 1

[asd@mcb.nsc.ru](mailto:asd@mcb.nsc.ru)

Весомый вклад в пространственно-временную и оперативную регуляцию активности генов в клетках млекопитающих вносит процессирование (созревание) мРНК. Регуляторная роль районов, расположенных в 3'-области гена и лежащих в основе терминации транскрипции и процессирования мРНК, изучена не полностью. Исследования до сих пор были затруднены, в частности, отсутствием методических возможностей систематического поиска функциональных ДНК-мотивов, расположенных за пределами сигналов полиаденилирования генов (не входящих в зрелые полиаденилированные транскрипты). Мы показали, что делеция лишь одного нуклеотида в 3'-области репортёрного гена, в 32 п.н. ниже сигнала полиаденилирования, приводит к двукратному усилению его экспрессии в разных типах культивируемых клеток, как мыши, так и человека. Мы выяснили, что данный эффект обусловлен более стабильным разрезанием транскрипта в 14 нуклеотидах ниже сигнала полиаденилирования.

Мы разработали модификацию мультиплексного анализа MPFA (Massively Parallel Functional Assay) для широкомасштабного функционального анализа 3'-участков ДНК модельного репортёрного гена. Этот подход позволяет измерять и индивидуально идентифицировать уровень транскрипционной активности одновременно десятков тысяч трансгенов. Данным методом мы исследовали регуляторный потенциал 3'-области, впоследствии удаляющейся при созревании мРНК. Мы установили, что различные мутации в этом районе способны как полностью подавлять, так и усиливать более чем в 100 раз экспрессию вышерасположенного репортёрного гена. Таким образом, мы обнаружили, что регуляторный потенциал терминирующих областей гена у млекопитающих сопоставим с таковым энхансерных элементов. Выявленные нами 3'-мотивы ДНК, усиливающие экспрессию гена, могут быть практически использованы при разработке генно-инженерных конструкций.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ #16-14-10288.

## ИЗБЫТОЧНЫЕ ПРОМОТОРЫ КАК СУПРЕССОРЫ ГОРИЗОНТАЛЬНО ПРИОБРЕТЁННЫХ ГЕНОВ

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

ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биофизики РАН, Россия, Пуцино, 142290, Институтская 3  
[ozoline@rambler.ru](mailto:ozoline@rambler.ru)

Горизонтально приобретенные гены обычно транскрипционно неактивны, хотя многие из них имеют протяжённые кластеры множественных промоторов. Особенностью таких «промоторных островков» является аномальное сочетание высокой эффективности взаимодействия с РНК-полимеразой и низкой способности перехода транскрипционных комплексов от abortивной инициации к продуктивному синтезу РНК. Принято считать, что низкий уровень экспрессии «чужих» генов у кишечной палочки обусловлен их специфической супрессией гистон-подобным белком H-NS. Избыточные промоторы «островков» могут быть побочными продуктами адаптивной эволюции, направленной на создание АТ-богатых мест связывания этого белка, или инструментами для интеграции полезных генов в регуляторные сети реципиента.

Для изучения процесса адаптивной эволюции генома в ответ на интеграцию посторонних генов, в мае 2015 г. был начат хронический рост двух мутантов *Escherichia coli* после замены в их геномах двух генов на ортологи из генома *Salmonella enterica*. Мониторинг спонтанных мутаций выявил повышенную частоту замен GC-пар на АТ-пары в рекомбинантных локусах, по сравнению с исходными генами. На популяционном уровне, это увеличило их сродство к H-NS, а по прошествии 11-13 тысяч генераций привело к ассимиляции трёх мутаций, расчётное время случайного появления которых составляет более 30000 генераций. Модельный перенос, следовательно, спровоцировал ускоренный мутагенез рекомбинантных областей, который увеличил их сродство к H-NS, но вопрос о параллельном формировании промотор-подобных мест пока остаётся открытым.

Вклада избыточных промоторов в активацию/супрессию чужих генов был оценён с использованием форсированного мутагенеза «островка» гена *appY*. Последовательности с измененной промоторной активностью отбирали по уровню экспрессии репортёрного гена *gfp* в составе плазмиды pET28\_eGFP. Три цикла PCR-мутагенеза с негативной селекцией трансформантов *E. coli* дали 9 мутаций, которые снизили их флуоресценцию до фоновых значений. Для максимальной активации потребовалось 9 циклов мутагенеза с позитивным отбором (49 мутаций). Число потенциальных промоторов уменьшилось в обоих случаях. Их высокая плотность в геноме, следовательно, может поддерживаться популяционным гомеостазом. В результате позитивного отбора была получена обычная регуляторная область с одним доминирующим промотором. Так как эффективность связывания H-NS, при этом, не изменилась, причиной восьмикратного активаторного эффекта можно считать удаление «лишних» промоторов.

**Благодарности:** Работа была выполнена при поддержке РФФИ (грант № 16-04-15070)

## РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ПРИ ТРАНСКРИПЦИИ ПОВРЕЖДЕННОЙ ДНК

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

Институт молекулярной генетики РАН, Россия, пл. Курчатова 2, Москва 123182

[akulb@img.ras.ru](mailto:akulb@img.ras.ru)

Молекулы ДНК в клетке постоянно подвергаются действию различных повреждающих факторов, что может приводить к нарушениям репликации и мутагенезу. Известно, что повреждения ДНК способны значительно влиять на процесс транскрипции, причем РНК-полимераза (РНКП) является сенсором на наличие повреждений, способствуя репарации матричной цепи ДНК. В то же время, молекулярные механизмы транскрипции поврежденных ДНК-матриц РНК-полимеразой во многом остаются неизвестными.

В нашей работе исследована активность РНКП *Escherichia coli* и *Deinococcus radiodurans* на матрицах ДНК, содержащих в своем составе различные поврежденные нуклеотиды. Показано, что, хотя данные бактерии сильно различаются по устойчивости к ДНК-повреждающим воздействиям, их РНКП реагируют на наличие в ДНК повреждений сходным образом. Модификации ДНК, сильно нарушающие спаривание нуклеотидов (тиминовые димеры, 1,N6-этенoadенин, AP-сайты), значительно ингибируют транскрипцию, некоторые повреждения (8-оксогуанин, Об-метилгуанин) способны также изменять специфичность включения нуклеотидов. Исследовано влияние мутаций в РНКП на транскрипцию поврежденной ДНК. Показано, что большинство мутаций в участках РНКП, контактирующих с матричным нуклеотидом, снижают эффективность транскрипции поврежденных матриц. В то же время, определенные мутации в активном центре улучшают транскрипцию поврежденной ДНК, вероятно, способствуя включению нуклеотидов в синтезируемую РНК. Установлено, что транскрипционные комплексы РНКП *D. radiodurans*, остановленные в поврежденных участках ДНК-матрицы, являются мишенью для действия Mfd-транслоказы, которая вызывает их диссоциацию. Gfh-факторы *D. radiodurans* усиливают остановку транскрипции при наличии в ДНК модифицированных нуклеотидов и способствуют действию белка Mfd. Таким образом, различные типы повреждений в ДНК-матрице по-разному влияют на эффективность и точность транскрипции и способны либо приводить к синтезу ошибочных РНК-транскриптов, либо к остановке РНКП, причем этот процесс может модулироваться факторами транскрипции и репарации ДНК.

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

## FROM THE STRUCTURE AND FUNCTION OF RIBOSOME TO DISEASE- CURING ANTIBIOTICS

Polikanov Y.

Antibiotic resistance in the US costs an estimated \$20 billion a year, because many pathogenic microorganisms quickly develop resistance to the drugs. This demands a constant search for new antibiotics. Our current research is focused on one of the major targets of antibacterial drugs – the ribosome, which is a very complex molecular machine responsible for protein synthesis in all living organisms. Since ribosome inhibitors are among the most successful antimicrobial drugs in the clinic, our ambition is to determine the structures of such inhibitors bound to their target in order to understand how they work and how they could be improved. Recently we established a biochemistry-inspired multifaceted approach, which allowed us not to only directly visualize interactions of various drugs with the ribosome with atomic precision but also to assess the effects of the drug binding on the ribosome functionality. In my talk, I will present our recent advances that enabled us to elucidate the mechanisms of action of novel classes of antibiotics, all of which are not represented among the clinically used drugs and, therefore, hold value for future structure-based rational drug design.

## MITOCHONDRIAL TRANSLATION INITIATION FACTOR 3 IS NON-OBLIGATORY FOR PROTEIN BIOSYNTHESIS

Kamenski A.

Mitochondria are obligatory organelles of virtually all eukaryotic cells derived from free-living bacteria. During evolution, mitochondrial genomes have significantly reduced. Nowadays, they code for several dozens of proteins and RNAs. Mechanisms of mitochondrial DNA maintenance and genetic information realization in organelles are close to those in bacteria but possess many specific features. In particular, the set of protein factors of matrix processes in mitochondria is different from the bacterial one.

Translation initiation factor 3 has not been identified in saccharomycetes for a while. In 2012, we have demonstrated that Aim23p from *S.cerevisiae* mitochondria possesses this function. Further investigations have shown that, unlike all other known systems of protein biosynthesis, in yeast mitochondria IF3 is dispensable for translation. In absence of Aim23p translation was misbalanced: some mitochondrial proteins were synthesized faster whereas amount of other proteins lowered. This led to significant defects in oxidative phosphorylation complexes and supercomplexes assembly which, in turn, resulted in impossibility of growth on non-fermentable carbon sources. However, after some time of incubation, such growth of yeast lacking Aim23p fully restored. On the other hand, neither respiration, nor respiratory complexes activity reached wild-type level after growth restoration. Using differential proteomics, we have shown that adaptation of yeast to the absence of Aim23p is accompanied by 10 times increase of the level of Tma19p, ortholog of human translationally-controlled tumor protein (TCTP). During oxidative stress (as a consequence of OXPHOS defects) Tma19p covers mitochondria, thus preventing mitophagy and apoptosis.

Supported by RSF, grant 17-14-01005.

## РЕГУЛЯЦИЯ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ В СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ

Виноградова Д.С.<sup>1,4</sup>, Zegarra V<sup>3</sup>, Максимова Е.М.<sup>1</sup>, Касацкий П.С.<sup>1</sup>, С.В. Кириллов<sup>1</sup>,  
Е.В. Полесскова<sup>1,2</sup>, Р. Милон<sup>3</sup>, Коневега А.Л.<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, Россия, 18830 Гатчина, мкр. Орлова Роца;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Россия, 195251 Санкт-Петербург, ул. Политехническая 29; <sup>3</sup> School of Medicine, Faculty of Health Sciences, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas – UPC, Peru, 15023 Lima; <sup>4</sup> Нанотемпер Технологис Рус, Россия, 191167 Санкт-Петербург, ул. Александра Невского д. 9.; <sup>5</sup> НИЦ «Курчатовский институт», Россия, 123182 Москва, пл. Академика Курчатова 1.  
[konevega\\_al@npi.nrcki.ru](mailto:konevega_al@npi.nrcki.ru)

Недостаток питательных веществ, тепловой шок, другие неблагоприятные условия внешней среды приводят к перестройке метаболизма в бактериальной клетке. Данный процесс обозначается общим термином «строгий ответ» (stringent response) и регулируется путем изменения внутриклеточной концентрации молекулы-алармона – гуанозинтетра (пента)фосфата (p)ppGpp. В данной работе для изучения (p)ppGpp- опосредованной регуляции этапа инициации синтеза полипептида использована изолированная бактериальная система биосинтеза белка *in vitro*. Применение современных методов флуоресцентной спектроскопии (микротермофореза, Microscale Thermophoresis, MST) и метода остановленного потока (Stopped Flow Spectrofluorimetry) позволяет изучать молекулярный механизм взаимодействия (p)ppGpp с инициаторным фактором IF2 в процессе образования 30S инициаторного комплекса. С помощью флуоресцентномеченых лигандов подтвержден кооперативный характер процесса образования инициаторного комплекса, изучена зависимость от всех лигандов, а также выявлена роль гуаниновых нуклеотидов (p)ppGpp и GTP в регуляции связывания инициаторной тРНК (fMet-tRNA<sup>fMet</sup>) и мРНК. Анализ престаационарной кинетики инициации показывает, что алармон (p)ppGpp эффективно предотвращает быструю ассоциацию 50S субчастицы с 30S субчастицей, т.е. сдвигает равновесие в сторону образования 30S пре-инициаторного комплекса. Эксперименты по конкурентному связыванию показали, что (p)ppGpp является более эффективным (чем GDP) конкурентом для GTP при взаимодействии с IF2. Впервые показано, что конкурентное ингибирующее действие (p)ppGpp на этап инициации зависит от типа матричной РНК. мРНК, кодирующие более активно экспрессируемые белки, повышают аффинность GTP к IF2 в составе 30S инициаторного комплекса, приводя к быстрому переходу таких комплексов в стадию элонгации. Менее активно транслируемые мРНК, наоборот, приводят к более эффективному замещению GTP алармоном, останавливая переход 30S комплексов в стадию элонгации.

Основываясь на полученных экспериментальных данных, мы предлагаем новую модель регуляции инициации трансляции, зависящую от концентрации (p)ppGpp, которая подразумевает дифференциальную регуляцию инициации для различных типов мРНК при реализации механизма строгого ответа в бактериальной клетке.

[1]. Vinogradova D.S. et al, How the initiating ribosome copes with (p)ppGpp to translate mRNAs. bioRxiv 545970; doi: <https://doi.org/10.1101/545970>

**Благодарности:** Эксперименты по эффективности инициации на различных мРНК выполнены при поддержке проекта РФФИ 17-00-00368 (АЛК), эксперименты по конформационной динамике рибосомных комплексов выполнены в рамках проекта РФФИ 17-14-01416 (АЛК). Работа в лаборатории Р.М. поддержана грантом InnóvatePerú 382-PNISCР-PIBA-2014 и 297-INNOVATEPERU-EC-2016.

## ВЗАИМНОЕ ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ ТЕРМИНАЦИИ И ИНИЦИАЦИИ ТРАСЛЯЦИИ ЭУКАРИОТ

Алкалаева Е.З.<sup>1</sup>, Егорова Т.В.<sup>1</sup>, Иванов А.В.<sup>1</sup>, Теренин И.М.<sup>2</sup>, Дмитриев С.Е.<sup>2</sup>,  
Шувалова Е.Ю.<sup>1</sup>, Шувалов А.В.<sup>1</sup>, Соколова Е.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Россия, Москва, ул. Вавилова 32;* <sup>2</sup> *МГУ имени М.В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского, Россия, Москва, ул. Ленинские горы, дом 1, стр 40*

[alkalaeva@imb.ru](mailto:alkalaeva@imb.ru)

Терминация трансляции эукариот осуществляется двумя белковыми факторами eRF1 и eRF3. Однако данные последних лет указывают на то, что эта стадия трансляции намного сложнее, чем принято думать. В ней участвуют как минимум еще восемь дополнительных белковых факторов. Кроме того, на терминацию существенно влияют участники других стадий трансляции, прежде всего факторы инициации, которые сближаются со стоп кодонами при образовании кольцевых closed-loop структур мРНК, а также при реинициации и трансляции коротких рамок считывания. Нами описаны механизмы взаимного влияния нескольких белков, участвующих как терминации, так и в инициации трансляции человека. Это поли(А)-связывающий белок РАВР, который загружает комплекс факторов терминации в рибосому и одновременно взаимодействует с комплексом факторов инициации на 5'-конце мРНК. Белки РАIP1 и РАIP2, связывающиеся с ним и регулирующие как инициацию, так и терминацию трансляции. Фактор инициации трансляции eIF4G, существенно стимулирующий терминацию трансляции, и фактор инициации eIF3, влияющий на подвижность мРНК в рибосоме и модулирующий чувствительность рибосомы к контекстам стоп кодонов. Все вместе полученные данные вносят существенный вклад в описание молекулярного механизма эукариотической трансляции и открывают широкие перспективы для разработки методов регуляции биосинтеза белка в клетке.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ № 19-14-00349, грантов РФФИ 18-04-00909 и 18-34-00642, программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (№. 1201363822).

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ

Журавлева Г. А.

Кафедра генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета, Университетская наб. 7/9, Санкт-Петербург, 199034

[g.zhuravleva@spbu.ru](mailto:g.zhuravleva@spbu.ru)

Около 30% наследственных болезней человека обусловлены присутствием стоп-кодонов в кодирующих последовательностях различных генов. Вместе с тем, хорошо известно, что существует естественный механизм, или нонсенс-супрессия, предотвращающий последствия возникновения преждевременных стоп-кодонов (РТС) за счет их считывания как значащих. В клетках эукариот в терминации трансляции участвуют два белковых фактора - eRF1 и eRF3. У модельного объекта, дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* они кодируются генами *SUP45* и *SUP35*, соответственно. Особенностью этого объекта является существование эпигенетического контроля точности трансляции. Это явление связано с переходом некоторых белков, прямо или косвенно участвующих в терминации трансляции, в особое конформационное состояние, называемое прионным. В настоящее время у дрожжей известно несколько прионов, влияющих на точность трансляции. Наиболее хорошо изученным из них является фактор [*PSI*<sup>+</sup>], продукт прионизации Sup35p. Гены *SUP45* и *SUP35* являются жизненно-важными, поэтому нонсенс-мутации, приводящие к появлению РТС в кодирующей последовательности этих генов, в большинстве своем должны вызывать гибель клеток. Известно, что даже небольшие делеции С-терминальных доменов как eRF1, так и eRF3, приводят к нарушению жизнеспособности. Ранее были получены нонсенс-мутанты по генам *SUP45* и *SUP35* и показано, что в мутантных клетках присутствует небольшое количество соответствующего фактора терминации трансляции, что позволяет сохранять жизнеспособность. Таким образом, у всех изолированных мутантов происходит трансляция РТС, возникающих в результате мутаций в генах *SUP45* или *SUP35*. Нонсенс-мутанты (*sup35-n*) характеризуются присутствием N-терминальных фрагментов Sup35p, сохраняющих прион-формирующий домен, что может приводить к индукции [*PSI*<sup>+</sup>]. Показано, что некоторые мутации *sup35-n* приводят к изменению свойств приона [*PSI*<sup>+</sup>], или его потере. Почти все известные *PNM* мутации, изгоняющие прион, локализируются в N-терминальном домене Sup35p. Нами охарактеризованы миссенс-мутации *sup35*, приводящие к летальности клеток дрожжей при совмещении с прионом [*PSI*<sup>+</sup>]. Эти мутации приводят к аминокислотным заменам в С-терминальной части Sup35p. Возможно, что летальность обусловлена изменением свойств фактора терминации трансляции Sup35p (eRF3).

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-14-00050 и ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

## РНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Сергиев П.В.<sup>1,2,3</sup>, Лаптев И.Г.<sup>1,2</sup>, Плетнев Ф.И.<sup>1,2</sup> Швецова Е.Т.<sup>1</sup>, Аверина О.А.<sup>1</sup>,  
Пермяков О.А.<sup>1,3</sup>, Серебрякова М.В.<sup>1,2</sup>, Дейкин А.В.<sup>4</sup>, Поликанов Ю.С.<sup>5</sup>, Донцова  
О.А.<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, 119992 Ленинские горы 1; <sup>2</sup>Сколковский институт науки и технологий, Россия, Московская область, Сколково, 121205, Большой бульвар, 30; <sup>3</sup>НМИЦ Онкологии имени И.И. Петрова, Россия, Санкт-Петербург, 197758, Песочный, Ленинградская 68, <sup>4</sup>Институт биологии гена, Россия, Москва, 119334, Вавилова 34/5, <sup>5</sup>Институт биоорганической химии, Россия, Москва, 117997, Миклухо-Маклая 16/10.  
[petya@genebee.msu.ru](mailto:petya@genebee.msu.ru)

Эпитранскриптомика, область науки о модификации РНК, начала бурно развиваться с 2012 года, когда оказалось, что метилирование мРНК в эукариотических организмах имеет регуляторный и всеобъемлющий характер. Предполагается, что механизмы модификации РНК могут оказывать на регуляцию экспрессии генов столь же значительное влияние, как модификация ДНК и гистонов, составляющая предмет изучения эпигенетики.

В своей работе мы использовали методы геномного редактирования для исследования неизученных ранее генов мыши, отвечающих за модификацию РНК. С помощью биоинформатических подходов была предположена роль генов METTL15 и TRMT2B. После трансфекции клеточных линий мышей генетическими конструкциями, кодирующими компоненты системы CRISPR/Cas9, направленные на инактивацию соответствующих генов и отбора клонов, в которых не осталось аллельных вариантов, способных кодировать функциональные РНК-матилтрансферазы METTL15 и TRMT2B, был проведен анализ митохондриальной рРНК. Оказалось, что в соответствии с нашим предположением, инактивация этих генов приводит к потере участков метилирования митохондриальной рибосомной РНК.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-75-30027.

## Симпозиум II: Экологическая генетика и генетическая токсикология / Symposium II: Ecological Genetics and Genetic Toxicology

### КЛЕТочНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИОННЫХ СТРАТЕГИЙ СВОБОДНОЖИВУЩИХ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ЭУКАРИОТ

Скарлато С.О.

Институт цитологии РАН, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект 4;  
[sergei.skarlato@mail.ru](mailto:sergei.skarlato@mail.ru)

Среди одноклеточных эукариот особый интерес представляют токсичные и потенциально токсичные виды жгутиконосцев-динофлагеллят, которые способны формировать «красные приливы», оказывающие губительное воздействие на качество прибрежных вод, флору и фауну эстуариев, рыболовство, аквакультуру и здоровье человека. На примере вида-вселенца в Балтийское море *Prorocentrum minimum* выявлены причины формирования высокого адаптивного потенциала у этих планктонных протистов. Показано, что миксотрофия – одна из важнейших адаптационных стратегий динофлагеллят, которая обеспечивает им возможность процветания в эвтрофированных прибрежных регионах. Исследования, выполненные с помощью метода масс-спектрометрии вторичных ионов в наномасштабе, впервые позволили количественно оценить вклад органических и неорганических субстратов в миксотрофный рост потенциально токсичных *P. minimum* на уровне единичных клеток. Установлено, что мочевины как источник органического азота имеет приоритетное значение для этих организмов по сравнению с неорганическим азотом в виде растворенных в воде нитратов. Выявлены гены, играющие ключевую роль в транспорте и метаболизме нитрат-ионов, глицина и мочевины у динофлагеллят. Получены новые данные о смертности жгутиконосцев, клеточном цикле, синтезе ДНК и РНК, структуре хромосом, спектрах белков стресса, ионных каналах. Экспериментально исследована реакция *P. minimum*, акклиматизированных к солености 17‰ (контроль), на краткосрочный стресс соленостью 4, 8 и 35‰. Показано, что доля мертвых клеток в популяции *P. minimum* после стресса критической соленостью 8‰ ниже по сравнению с этим показателем при других режимах солености. Стресс вызывал лишь незначительные изменения жизненного цикла жгутиконосцев; на ультраструктурном уровне эффект выявлен для тонкой организации хромосом – при солености 4 и 8‰ изменения были очевидными, но обратимыми. Обнаружен повышенный синтез РНК и интенсивная репликация ДНК у *P. minimum* при соленостном стрессе. При изменении солености до 8‰ обнаружено увеличение синтеза белков стресса на уровнях 32 кДа (в 5.8 раза) и 70 кДа (в 1.5 раза). С помощью методов биоинформатики у динофлагеллят обнаружено большое разнообразие ионных каналов, относящихся к суперсемейству потенциал-управляемых катионных каналов; выявлены структурные особенности этих каналов. Полученные результаты важны для решения острых социально-значимых вопросов, связанных с охраной окружающей среды и здоровьем человека. Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 19-14-00109).

## ПРИРОДНО-ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИЙ АГРОБАКТЕРИАЛЬНЫХ *PLAST*-ГЕНОВ

Матвеева Т.В.<sup>1</sup>, Хафизова Г.В.<sup>1</sup>, Владимиров И.А.<sup>1</sup>, Сокорнова С.В.<sup>2</sup>, Исаева И.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9; <sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Россия, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, д. 3; <sup>3</sup>ЗГБОУ СОШ 104, Россия, Санкт-Петербург, ул. Харченко, д. 27

[radishlet@gmail.com](mailto:radishlet@gmail.com)

Агробактерии – это почвенные бактерии, ныне относимые к роду *Rhizobium*. Они вызывают у растений развитие заболеваний – корончатых галлов и волосовидных корней, за счет введения в геном растительной клетки фрагмента своей ДНК, называемой Т-ДНК. В Т-ДНК содержатся гены синтеза опинов, используемых агробактериями в качестве источника питания, а также гены, приводящие к разрастанию растительных тканей. Продукты этих генов обладают различными функциями. Гены *tms1*, *tms2*, *tmr* из *Rhizobium radiobacter* (ранее *A.tumefaciens*) контролируют синтез ауксинов и цитокининов соответственно [1]. Но есть и другая группа генов, представители которых присутствуют в Т-ДНК и *R. radiobacter* и *R. rhizogenes*. Их относят к *plast* генам. Они были выявлены на основе сходства белковых последовательностей в 1987 году в лаборатории Дэвида Тэпфера и получили свое название от слов «developmental plasticity», поскольку значительно меняли морфогенез трансгенных тканей. К этой группе были изначально отнесены гены *orf8*, *rolB*, *rolC*, *orf13* и *orf14* *R. rhizogenes*, а также *gene 5*, *6a*, *6b*, *7* из *R. radiobacter*. В литературе обсуждались возможные общие функции продуктов этих генов, основанные на общем происхождении. До настоящего времени нет окончательной ясности в этом вопросе [2].

Новое развитие данная тема получила с возросшим интересом к природно-трансгенным растениям. Это виды растений, в геномах которых присутствуют гомологи генов Т-ДНК [3]. Они предаются в ряду поколений, многие из них экспрессируются. Интересно отметить, что среди экспрессирующихся в растениях генов агробактериального происхождения отмечены многие *plast* гены. Вероятно, они там играют некую особую роль. Какую – предстоит узнать. Кроме того, в природно-трансгенных растениях описаны ранее неизвестные *plast* гены. Это свидетельствует о том, что мы знаем очень мало о биоразнообразии Т-ДНК агробактерий. В докладе будет сделан обзор имеющихся данных о *plast* генах природно-трансгенных растений, и о их возможных функциях.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РНФ, грант 16-16-10010

### Список литературы:

- [1]. Nester E. W. *Agrobacterium*: nature's genetic engineer. //2015 Front Plant Sci 5, article 730.
- [2]. Otten L. The *Agrobacterium* Phenotypic Plasticity (*Plast*) Genes.// 2018.Curr Top Microbiol Immunol. doi: 10.1007/82\_2018\_93.
- [3]. Matveeva T.V. *Agrobacterium*-Mediated Transformation in the Evolution of Plants. //2018 Curr Top Microbiol Immunol. doi: 10.1007/82\_2018\_80.

## ENVIRONMENTAL AND PHYSIOLOGICAL REGULATION OF YEAST SELF-PERPETUATING PROTEIN AGGREGATES

Chernova T.A.<sup>1</sup>, Karpova T.S.<sup>2</sup>, Wilkinson K.D.<sup>1</sup>, Chernoff Y.O.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Emory University, USA, Atlanta, GA 30322; <sup>2</sup>NCI-NIH, Bethesda, MD, 20892;

<sup>3</sup>Georgia Institute of Technology, USA, Atlanta, GA 30332-2000, <sup>4</sup>St. Petersburg State University, Russia, St. Petersburg 199034

[tcherno@emory.edu](mailto:tcherno@emory.edu)

Amyloids and prions are self-perpetuating protein aggregates causing important diseases in mammals. Although some environmental agents have been linked to certain amyloid diseases, the molecular basis of their action remains unclear. In lower eukaryotes, such as yeast, prions act as heritable elements, which increase phenotypic diversity by altering a range of cellular processes. Non-heritable elements of similar nature (termed “mnemons”) have also been described. Rapid phenotypic changes controlled by prions or mnemons may play an important role when an organism faces an environmental stress or drastic physiological changes. While some prions are harmful to yeast, it has been speculated that prion formation could be beneficial in variable environmental conditions. Environmental stresses or physiological changes may trigger prion and mnemon formation or loss, supposedly acting via influencing protein concentrations, and/or by localizing aggregating proteins to nucleation sites via heterologous ancillary helpers.

G-protein-coupled receptors (GPCRs) are integral membrane proteins that initiate responses to extracellular stimuli by mediating ligand-dependent activation of cognate heterotrimeric G proteins. Ste18 is a gamma-subunit of a G-protein receptor that is conserved in evolution and plays a key role in a variety of cellular processes, including pheromone signaling that is crucial for the physiological changes during yeast mating. We demonstrate that Ste18 possesses prion-like aggregation properties. Ste18 aggregation depends on its association with a cellular membrane. This resembles our previous results for another protein, Lsb2 [1], [2], which forms a metastable prion in response to thermal stress and induces other prions. Lsb2 prion properties depend on association with a peripheral actin cytoskeleton. Our findings emphasize the significance of a specific intracellular location for the nucleation of ordered protein aggregates, and point to new opportunities for pharmacological intervention and/or prophylactic measures acting via environmental or physiological modulation of protein aggregation.

[1] Chernova T.A. et al., Prion induction by the short-lived, stress-induced protein Lsb2 is regulated by ubiquitination and association with the actin cytoskeleton. // 2011 Mol Cell V.43, P.242-252.

[2] Chernova T.A. et al., Yeast short-lived actin-associated protein forms a metastable prion in response to thermal stress. // 2017 Cell Reports V.18, P.751-761.

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Дурнев А.Д., Жанатаев А.К.

*ФГБНУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, Москва, Россия*

Основными задачами генетической токсикологии (ГТ) являются исследование механизмов и закономерностей мутагенеза в различных типах клеток, скрининг и мониторинг потенциальных генотоксикантов, разработка методов выявления генотоксических эффектов, изучение возможностей их модификации и оценка риска генотоксических воздействий в отношении здоровья. Испытание на генотоксичность - обязательный этап внедрения лекарств, пестицидов, пищевых добавок и других групп соединений.

Современные протоколы исследований предусматривают использование наборов различных тест-систем и методов и совокупно позволяют регистрировать различные генотоксические события: ДНК-повреждающую, мутагенную, кластогенную и анеугенную активности соматических клетках. Они также обеспечивают возможность регистрации комутагенных и антимутагенных эффектов. Базовые представления в области ГТ пополнены новыми знаниями о механизмах и источниках генотоксичности («ДНК-реактивные» и «ДНК-нереактивные» генотоксиканты, эндогенные генотоксиканты, ингибиторы репарации и регуляции топологии ДНК и т.д., а также понятиями об органо- и тканеспецифичности мутагенеза, особенностях подходов к тестированию наночастиц, сравнительной значимости результатов, полученных *in vitro* и *in vivo*.

В текущей перспективе актуальны исследования, направленные на методическое обеспечение регистрации генотоксических событий в генеративных клетках и митохондриальном геноме, оценку инсерционного мутагенеза в приложении к фармакологически значимым генетическим конструкциям, а также выявление роли эпигенетической регуляции в чувствительности к действию генотоксикантов, получению сведений о биологической и медицинской значимости повреждений ДНК.

Важным представляется поиск практически значимых антимутагенных средств и изучение механизмов защиты генома. Прежде всего, в сфере экзогенной регуляции сигнальных (Keap1-Nfr2) и репарационных клеточных систем. Лекарственные и пищевые антимутагены должны быть востребованы для профилактики и сопутствующей терапии широкого круга заболеваний, этиопатогенез которых обусловлен генотоксическими событиями.

В докладе приводятся собственные экспериментальные результаты, обосновывающие и подтверждающие изложенные тезисы.

## МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ТЯЖЕЛОЙ ВОДЫ НА ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Абилев С.К., Смирнова С.В., Игонина Е.В.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Российская Федерация, 119991, Москва. ул.Губкина,3.*

*abilev@vigg.ru*

Биологические свойства нерадиоактивного изотопа водорода дейтерия изучают с момента его открытия. Оксид дейтерия (D<sub>2</sub>O), получивший название «тяжелой» воды, негативно влияет на живые организмы: замедляет метаболизм, вызывает снижение уровней синтеза белков и нуклеиновых кислот, ингибирует митоз в стадии профазы, что приводит к нарушению процесса клеточного деления и морфологическим изменениям, понижает скорости ферментативных реакций. Имеются данные усиливающего действия D<sub>2</sub>O на цитотоксичность ряда противоопухолевых препаратов для опухолевых клеточных линий. Механизмы этого явления неясны. Возможно, что в результате изотопного замещения легкого (протий) на тяжелый изотоп (дейтерий) происходит усиление ковалентных связей типа N–H, а также усиление связи генотоксикантов с ДНК. В этой связи становится актуальным изучение механизмов влияния дейтерия на генетические процессы (мутагенез, репарация, рекомбинация), спонтанные и индуцированные химическими и физическими факторами, в бактериальных клетках и в клетках млекопитающих.

Нами впервые проведены исследования модифицирующего действия D<sub>2</sub>O на индукцию систем репарации ДНК в клетках *E.coli* в ответ на действие генотоксичных агентов. В работе использовали lux-биосенсоры *E. coli* MG 1655 (pRecA-lux), *E. coli* MG1655 (pColD-lux) и *E.coli* MG1655 (pAlkA-lux), которые содержат плазмиды с lux-опероном почвенной фотобактерии *Photorhabdus luminescens*, поставленный под контроль промоторов генов recA, colD, alkA, соответственно. Оперон lux отвечает за обеспечение биолюминесценции, используемой в данном тесте в качестве репортерной функции. Обнаружено, что D<sub>2</sub>O приводит к усилению люминесценции у биосенсоров *E. coli* MG 1655 (pRecA-lux) и *E. coli* MG1655 (pColD-lux), индуцированной такими генотоксикантами, как 4-нитрохинолин-1-оксид, N-нитрозо-N-метилмочевина и митомицин С. Это является свидетельством того, что в случае индукции генотоксичными агентами повреждений ДНК, дейтерирование усиливает экспрессию генов, относящихся к системе SOS-репарации ДНК.

При использовании биосенсора *E. coli* K12 MG1655 (pAlkA-lux), люминесцирующего в результате активации промотора гена alkA в ответ на алкилирование ДНК, было показано, что D<sub>2</sub>O усиливает экспрессию ada-регулона *E. coli*, индуцированную алкилирующими соединениями N-нитрозо-N-метилмочевинной и метилметансульфонатом. Предполагаем, что дейтерирование может быть одним из главных факторов стабилизации связи между промотором и алкилированным белком Ada, приводящим к усилению транскрипции ada-регулона.

Предварительное дейтерирование бактерий *Esherichia coli* D<sub>2</sub>O в концентрациях от 2,5 до 10% в среде приводило к усилению экспрессии гена recA, индуцированной перекисью водорода в концентрациях 2,2-8,8 ммоль/л и снижению уровня экспрессии гена katA, что может привести к накоплению перекиси в клетке. Это может, соответственно, привести к увеличению уровня повреждений ДНК, регистрируемых по увеличению экспрессии гена recA.

## БАКТЕРИАЛЬНЫЙ МЕТАГЕНОМ КАК ФАКТОР ИНДУКЦИИ И МОДИФИКАЦИИ МУТАГЕНЕЗА В КЛЕТКАХ ОРГАНИЗМА ХОЗЯИНА

Дружинин В.Г., Баранова Е.Д.

Кемеровский государственный университет, Россия, г. Кемерово, ул. Красная, 6

[druzhinin\\_vladim@mail.ru](mailto:druzhinin_vladim@mail.ru)

Последние достижения в развитии молекулярных методов исследования бактериальных геномов, в особенности, использование методов секвенирования нового поколения, привели к пониманию значимости микробиома в поддержании здоровья, его влияния на развитие острых, хронических и неопластических заболеваний. В этой связи одним из важных и пока малоизученных аспектов влияния микробиома является способность многих бактериальных видов индуцировать мутации или модулировать мутационный процесс в клетках организма хозяина [1]. В докладе обсуждаются разнообразие механизмов генотоксического действия отдельных представителей бактериальной микробиоты, включая прямое повреждение ДНК инфицированных клеток генотоксинами, индукцию окислительного стресса, иммунную модуляцию, задержку репликации и снижение эффективности репарации. Приводятся примеры исследований, указывающих на связь таксономического состава микробиома конкретных органов млекопитающих с уровнем генетических повреждений в их соматических клетках. Подчеркивается, что бактерии используют различные стратегии для обеспечения собственной выживаемости и репликации, в том числе путем подавления репарации ДНК клеток организма хозяина, способствуя выживаемости инфицированных клеток, несмотря на наличие в них повреждений ДНК. Таким образом, можно говорить о том, что индуцируемые микробиотой генотоксические эффекты являются своеобразным «побочным продуктом» реализации этих бактериальных стратегий в организме хозяина. Тем не менее, такая «побочность» не умаляет той роли, которую играет мутагенез, индуцируемый и (или) модулируемый бактериями, входящими в состав микробиоты.

В докладе представлены пилотные результаты, полученные в рамках экспериментальной проверки собственной гипотезы о том, что чувствительность генома человека к генотоксическим и канцерогенным факторам, воздействующим на жителей угледобывающего промышленного региона, может зависеть от состояния микробиоты респираторного тракта. Приводятся сведения о таксономическом составе микробиома верхних дыхательных путей и ассоциированные с ним генотоксические эффекты в соматических клетках первичных пациентов с раком легкого и больных профессиональными пневмокониозами.

### Литература

[1]. Druzhinin V.G., Matskova L.V., Fucic A. Induction and modulation of genotoxicity by the bacteriome in mammals. // 2018, Mutat. Res., V.776, P.70-77.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 18-14-00022)

## ГЕНОТОКСИЧНОСТЬ НЕСИММЕТРИЧНОГО ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНОГО НИТРОЗОДИМЕТИЛАМИНА В ОРГАНИЗМЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Ловинская А.В.<sup>1</sup>, Колумбаева С.Ж.<sup>1</sup>, Абилов С.К.<sup>2</sup>, Коломиец О.Л.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Казахстан, Алматы, пр. аль-Фараби, 71; <sup>2</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Москва, ул. Губкина, 3

[annalovinska@rambler.ru](mailto:annalovinska@rambler.ru)

Проблема загрязнения окружающей среды компонентами ракетного топлива не теряет своей остроты. Поэтому всесторонне изучение воздействия ракетного топлива на организм и установление допустимой суточной дозы для населения, проживающего на загрязненных ракетным топливом территориях, чрезвычайно актуально.

Целью настоящего исследования явилось изучение мутагенного и генотоксического действия основного компонента ракетного топлива несимметричного диметилгидразина (НДМГ) и продукта его окисления нитрозодиметиламина (НДМА) на соматические и половые клетки лабораторных мышей-самцов линии BALB/cYwal в возрасте 2-3 месяцев. Животных умерщвляли под изофлурановым наркозом, забирали образцы костного мозга для цитогенетического анализа и образцы печени, почек, селезенки, легких для исследования повреждений ДНК методом ДНК-комет, образцы семенников для получения тотальных препаратов синаптонемных комплексов (СК) с последующим иммуноцитохимическим анализом. В эксперименте использовали водные растворы НДМГ в дозах 6,6; 13,2; 26,4 мг/кг, НДМА – 2,0; 4,0; 8,0 мг/кг. Введение ксенобиотиков осуществляли внутривентриально однократно или ежедневно в течение 10 дней.

НДМГ и НДМА проявили выраженный мутагенный эффект в клетках костного мозга мышей при всех дозах и сроках воздействия, проявившийся в статистически значимом увеличении частоты хромосомных и геномных мутаций ( $p < 0,05$ ). В спектре хромосомных aberrаций - перестройки хромосомного и хроматидного типов, точечные фрагменты. Ксенобиотики индуцировали однонитевые разрывы ДНК в клетках внутренних органов. С увеличением дозы значение индекса повреждения (ИП) увеличивалось. Наибольший ИП отмечен в почках – 6,63 (НДМГ, 13,2 мг/кг) и 14,15 (НДМА, 8,0 мг/кг).

НДМГ и НДМА индуцировали нарушения СК, в числе которых - нарушение формирования полового тельца, десинапсис половых хромосом, кольцевые СК. Эти нарушения отмечены и на 38 день после последней интоксикации в подостром опыте, что свидетельствует о риске сохранения хромосомных нарушений, предположительно возникших в пуле стволовых клеток.

На основании полученных результатов проведен расчет производного безопасного уровня генотоксического действия (DN(M)EL) НДМГ и НДМА, который можно рассматривать как допустимую суточную дозу (ДСД) для населения. ДСД по НДМГ составила  $4,3 \times 10^{-5}$  мг/кг/день, по НДМА –  $2,5 \times 10^{-5}$  мг/кг/день. Полученные величины производного безопасного уровня воздействия НДМГ, НДМА могут послужить основой для разработки гигиенических нормативов ДСД по данным ксенобиотикам.

**Благодарности:** Данная работа выполнена в рамках проекта МОН РК ГР № 0112РК00580

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БУККАЛЬНОГО МИКРОЯДЕРНОГО ЦИТОМНОГО ТЕСТА

Сычева Л.П.

Федеральное Государственное бюджетное учреждение «Государственный научный Центр Российской Федерации - Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна», Россия, Москва, Живописная, 46,  
[lpsycheva@mail.ru](mailto:lpsycheva@mail.ru)

Буккальный микроядерный цитомный тест (БМЦТ) – неинвазивный, высокоинформативный, количественный, несложный в отношении подготовки препаратов тест, имеет большой потенциал для выявления мутагенного действия физических, химических и биологических факторов у человека.

В рамках международного проекта HUMNх1 проведена стандартизация теста [1]: определено название, способы окраски и анализа препаратов, спектр биомаркеров, фоновый уровень микроядер. Наше усовершенствование БМЦТ состоит в расширении спектра показателей, определении диапазонов ориентировочных нормативных величин, классификации биомаркеров, включении трех интегральных показателей (цитогенетического действия, пролиферации и апоптоза), введении уровней цитогенетического стресса (низкий, умеренный, высокий), а также обобщающего индекса накопления цитогенетических нарушений, разработке протокола и бланка регистрации результатов [2]. Такой анализ удобен для ранжирования субъектов, разделения по группам риска с учетом степени поврежденности генетических структур клеток.

В более, чем 70 публикациях по БМЦТ за последние 5 лет, в том числе наших, при оценке влияния разных факторов на здоровье рабочих, медиков или населения выявлено цитогенетическое и цитотоксическое действие радиотерапии, химических загрязнений, в том числе пестицидов, применяемых на бобовых, чайных, кофейных, табачных плантациях, угольной, дорожной, табачной, древесной, хлопковой пыли, асбеста, ПАУ, диоксинов, бензиновых паров, стирола, метилметакрилата, анестетиков, мышьяка, тяжелых металлов. В основном, авторы отмечают невысокое, в пределах 2-3-кратного, повышение уровня цитогенетических нарушений. Похожий эффект разных факторов, по-видимому, указывает на универсальный механизм начальных стадий развития патологии – повреждение генетических структур на молекулярном и клеточном уровнях. Возможно, это связано со вторичной индукцией мутагенами оксидативного стресса в доступных, а также опосредованно – в удаленных от места воздействия клетках разных органов. Показана ассоциация частоты клеток с микроядрами и определенных аллелей генов метаболизма (*GST*), оксидативного стресса, репарации (*OGG1*), апоптоза (*P53*).

По-прежнему требуют углубленного изучения такие вопросы как диагностическая значимость цитогенетических и цитологических биомаркеров, механизмы формирования, длительность существования, их взаимосвязь между собой и с молекулярными показателями, определение критических уровней повреждений клеточных структур для прогноза развития патологии.

[1] Bolognesi C., Roggieri P., Ropolo M. et al. Buccal micronucleus cytome assay: results of an intra- and inter-laboratory scoring comparison. //2015. Mutagenesis, V.30.P.545-55.

[2] Сычева Л.П. Цитогенетический мониторинг для оценки влияния факторов внешней среды на здоровье человека. //2016. Руководство «Здоровье здорового человека». С. 221-24.

## FROM PRIMARY LESIONS TO INHERITED CHANGES OF GENETIC MATERIAL

Stepchenkova E.I.<sup>1,2</sup>, Zhuk A.S.<sup>1,2</sup>, Pavlov Y.I.<sup>3</sup>, Inge-Vechtomov S.G.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Saint-Petersburg State University*, <sup>2</sup>*Saint-Petersburg Branch of Vavilov Institute of General Genetics RAS, Russia, Saint-Petersburg, 7-9 Universitetskaya Emb.*; <sup>3</sup>*Eppley Institute for Research in Cancer and Allied Diseases, University of Nebraska Medical Center, Omaha, NE, 68198, U.S.A.*  
*stepchenkova@gmail.com*

Mutations are traditionally classified as spontaneous or induced. Nowadays we understand that this division does not rely on principal differences in the molecular mechanisms leading to these two types of mutation, because both types depend on DNA lesions (“spontaneous” or “induced”) and DNA polymerase activities during replication, repair or recombination. In our work we have studied intertwining of spontaneous and induced mutagenesis. We have found that [Fe-S]-clusters associated with C-terminal domains of catalytic subunits of the B-family DNA polymerases regulate mutation rates on damaged and undamaged DNA. We have also shown that defects in purine nucleotide biosynthesis lead to increased rates of mutagenesis dependent on the activity of specialized DNA polymerase  $\zeta$ . We also studied early stages of mutagenesis with the use of so-called “alpha-test” in *Saccharomyces cerevisiae*. We used the alpha-test to identify the molecular nature of primary lesions that are able to affect phenotype of cells before they are removed by repair. We also studied the ability of primary DNA lesions to pass through the cell cycle stages by the use of asynchronous yeast cultures and in mutant yeast strain *cdc28-4* blocked at the G1 stage by determining the frequency of UV-induced inherited and non-inherited genetic changes. Our results have shown that phenotypic expression of primary DNA lesions in the alpha-test depends on the severity of DNA damage and the stage of the cell cycle in which this lesion has occurred. Our results will help to improve classification of mutations that will be based of molecular mechanisms of mutagenesis on damaged and undamaged DNA.

## СТРЕССОВЫЕ ГЕНЫ СЕМЕЙСТВА HSP70 И АДАПТАЦИЯ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ УСЛОВИЯМ: ЗАКОНОМЕРНОСТИ И ИСКЛЮЧЕНИЯ

Гарбуз Д.Г.<sup>1</sup>, Зацепина О.Г.<sup>1</sup>, Давлетшин А.И.<sup>1</sup>, Евгеньев М.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Россия, Москва, 119991, ул.

Вавилова, д. 32

*dgarbuz@yandex.ru*

Действие любых стрессовых факторов (повышение температуры, гипоксия и др.) приводит к повышению в клетках концентрации частично денатурированных белков и вызывает активацию группы генов теплового шока (ТШ), или «стрессовых генов». Кодлируемые ими белки (белки теплового шока, сокращенно БТШ или Hsps от «heat shock proteins») выполняют в клетке защитные функции, в основном заключающиеся в предотвращении агрегации денатурированных белков и восстановлении их нативной конформации. Ключевым компонентом системы рефолдинга белков, денатурированных под воздействием стресса, считаются белки семейства Hsp70. Система генов ТШ обнаружена у всех исследованных организмов (бактерий, архей, растений, proto- и metazoa) и до недавнего времени считалась исключительно консервативной.

На сегодня появляется все больше данных о том, что, при сохранении высокой консервативности в области кодирующих последовательностей, число копий, структура промоторов и уровень экспрессии генов hsp70 значительно различаются у видов, относящихся к разным таксонам, и характеризующихся разным уровнем устойчивости к стрессовым воздействиям. При этом соблюдаются общие закономерности: термоадаптированные виды по сравнению с холодолюбивыми характеризуются либо высоким базальным уровнем белка Hsp70, либо повышенным накоплением Hsp70 при гипертермии. У термоустойчивых организмов гены hsp70 образуют компактные кластеры, структура генов в составе которых стабилизируется за счет генной конверсии. Предположительно, такая геномная организация генов hsp70 имеет адаптивное значение за счет более интенсивной транскрипции близко расположенных копий вследствие кооперативного взаимодействия. У холодолюбивых видов, не подвергающихся действию ТШ в естественных условиях обитания, гены hsp70 в геноме находятся на значительных расстояниях друг от друга; часть копий генов hsp70 при этом подвергаются псевдогенизации. Промоторы генов hsp70 у видов, относящихся к эволюционно отдаленным таксонам, используют различные молекулярные механизмы активации транскрипции при ТШ, связанные с модификацией хроматина. Изменения структуры и характера экспрессии генов hsp70 могут играть ведущую роль в адаптации организмов к тем или иным условиям окружающей среды и способствовать заселению новых биотопов, в т.ч. характеризующихся экстремальными условиями, с последующей эволюционной дивергенцией и обособлением новых видов, а также надвидовых групп.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ 18-04-00895 и 18-29-07015.

**Симпозиумы III, XVIII: Биоинформатика и системная биология / Symposia  
III, XVIII: Bioinformatics and Systems Biology****ЭВОЛЮЦИЯ ПАТТЕРНОВ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ЦВЕТКОВЫХ  
РАСТЕНИЙ**

Пенин<sup>1,2</sup> А.А., Касьянов<sup>3</sup> А.С., Клепикова<sup>2</sup> А.В., Герасимов<sup>1,2</sup> Е.С., Терерина<sup>4</sup> А.А.,  
Логачева<sup>1,2,5</sup> М.Д.

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва,

<sup>2</sup>Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Россия, Москва

<sup>3</sup>Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН, Россия, Москва,

<sup>4</sup>Институт проблем экологии и эволюции имени А. Н. Северцова Россия, Москва,

<sup>5</sup>Сколковский институт науки и технологий, Россия, Москва.

[alekseypenin@gmail.com](mailto:alekseypenin@gmail.com)

Одной из основных особенностей эволюции геномов растений являются многократные раунды полногеномной дупликации (алло- или автополиплоидизации) с последующей субфункционализацией или неофункционализацией генов, а также потерей части из них. В ряде случаев наблюдаются так же дупликации отдельных участков генома. В результате этого, у видов, находящихся на больших эволюционных расстояниях, можно однозначно сопоставить только небольшую часть генов. Так, между *Arabidopsis thaliana* и *Oryza sativa* только около 20% генов формируют ортопары, а остальные объединяются в группы гомологичных генов (ортогруппы), в пределах которых однозначное сопоставление затруднено или невозможно. Несколько более хороших результатов позволяет достичь филогенетический анализ, однако существенного улучшения не происходит. Помимо этого, часто наблюдаются случаи выполнения одинаковых функций не ортологичными, а паралогичными генами, что также мешает функциональному сопоставлению. Это делает затруднительным перенос известных функций генов с модельных объектов на не модельные, что усложняет как изучение функциональной эволюции отдельных генов и классов генов, так и снижает практическую ценность исследований, проводимых на модельных объектах. Мы предлагаем новый подход для межвидовой классификации генов, основанный на сопоставлении профилей экспрессии. Так как из-за большой разницы в морфологии определение однозначного соответствия разных частей растений затруднено, для сравнения профилей мы использовали метод, основанный на машинном обучении, который не требует такого сопоставления. Мы демонстрируем работу этого метода на наборе видов, представляющем основные эволюционные линии цветковых, в том числе *Arabidopsis thaliana*, *Solanum lycopersicum*, *Amborella trichopoda*, *Fagopyrum esculentum*, *Zea mays* и ряде других. Одним из результатов проведенного анализа является определение предковых состояний профилей экспрессии генов, которые в целом можно назвать пантранскриптомом. Анализ генов современных видов относительно их предковых состояний позволяет определить какие из них подверглись процессам суб и неофункционализации, а какие сохранили консервативность функций.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Российского Научного Фонда 17-14-01315 и Российского Фонда Фундаментальных Исследований 18-29-13017.

## СКРЫТЫЙ КОДИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ ГЕНОВ ЭУКАРИОТ

Кочетов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10;  
[ak@bionet.nsc.ru](mailto:ak@bionet.nsc.ru)

Развитие технологий (Ribo-seq, протеогеномика) подтвердило предположения о возможности синтеза нескольких полипептидов с одной эукариотической мРНК и открыло существование огромного пласта функционально-значимых событий альтернативной трансляции. В докладе обсуждаются структурно-функциональная организация мРНК, молекулярные механизмы распознавания альтернативных открытых рамок считывания, их регуляторный потенциал, вклад в протеом эукариотических клеток и возможность предсказания.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН 0324-2018-0018

## ФОРМИРОВАНИЕ ТРИПЛЕКСОВ ДЛИННЫМИ НЕКОДИРУЮЩИМИ РНК В МАСШТАБЕ ПОЛНОГО ГЕНОМА

Медведева Ю.А.

Институт биоинженерии, Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН)

Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН (ИОГен РАН)

Московский физико-технический институт (Физтех)

117312 Российская Федерация, г. Москва, пр-т 60-летия Октября д. 7, корп.1

[ju.medvedeva@gmail.com](mailto:ju.medvedeva@gmail.com)

При анализе данных о полногеномном взаимодействии РНК и ДНК было обнаружено потенциально регуляторные контакты, в которых РНК связывает ДНК с формированием РНК:ДНК триплекса. Такие взаимодействия наиболее характерны для длинных нкРНК, вместе с уже известными днкРНК обнаружен ряд новых днкРНК, которые могут образовывать триплексы. Также показано, что небольшое количество белок-кодирующих РНК также способны к формированию триплексов во многих районах генома, таким образом, выполняя дополнительную регуляторную функцию.

В последние годы было обнаружено большое количество кодирующих и некодирующих РНК, связанных с хроматином. В связи с этим стали развиваться методы, осуществляющие одновременно идентификацию хроматин-связывающих РНК и полногеномное картирование сайтов связывания этих РНК. Однако данные методы сами по себе не позволяют выявить механизм взаимодействия РНК с хроматином, что оставляет пространство для компьютерного анализа участков взаимодействия. Известно, что РНК может связываться с хроматином, используя различные механизмы: через РНК-белковые взаимодействия, через формирование R-петель (дуплекс ДНК:РНК), через формирование дуплексов с вновь синтезированной РНК (дуплекс РНК:РНК) и через формирование РНК:ДНК триплексов. Для формирования триплекса РНК связывается по правилам Хугстина с двойной спиралью ДНК В-формы, которая в свою очередь спарена по правилам Уотсона-Крика. Хотя связи Хугстина являются более слабыми, в последнее время поступает все больше данных о широкой распространенности таких взаимодействий.

В данной работе проанализированы результаты эксперимента по определению полногеномных взаимодействий РНК с ДНК (GRID-seq), который позволяет идентифицировать весь репертуар взаимодействующих с хроматином РНК и их сайтов связывания, однако не позволяет определить механизм взаимодействия. Как и следовало ожидать, большинство контактов РНК:ДНК находятся в *cis*-позиции, то есть отражают пространственную ко-локализацию новосинтезируемых РНК и соответствующего гена. Однако следует отметить также наличие *trans*-взаимодействий, причем не только в пределах одной хромосомы, но также случаев, когда РНК и связываемый ей участок ДНК находятся на разных хромосомах. Было выдвинуто предположение, что именно такие *trans*-взаимодействия и могут являться регуляторными. Действительно, было обнаружено, что среди таких контактов значительно повышена частота формирования триплекса между РНК и ДНК. Особенно сильно этот эффект выражен для длинных некодирующих РНК (днкРНК). Выявлен ряд ранее неизвестных днкРНК, которые потенциально могут участвовать в регуляции хроматина через формирование триплексов. Кроме того показано, что некоторые белок-кодирующие РНК также формируют много межхромосомных контактов и могут образовывать триплексы с ДНК в точках контакта. Возможно, эти РНК имеют двойную функцию.

Работа поддержана Российским научным фондом, грант №18-14-00240.

## FUNCTIONAL ANALYSIS OF REGULATORY POLYMORPHISMS IN VERTEBRATE GENOMES

Kulakovskiy I. V., Vorontsov I. E., Yevshin I. S., Sharipov R. N., Fedorova A. D., Rumynskiy E. I., Medvedeva Y. A., Penzar D., Bajic V.B., Kolpakov F. A., Makeev V.J.  
*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, 119991, GSP-1, Gubkina 3, Moscow, Russia*  
*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 119991, GSP-1, Vavilova 32, Moscow, Russia*  
*Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow Institute of Physics and Technology, Institutskiy per. 9, Dolgoprudny, Moscow Region, 141700, Russia*

Recent findings indicate that in many cases regulatory variants affect the organism development and progression of many wide-spread diseases including cancer and autoimmune disorders. Gene regulation at the transcription level is mainly controlled by chromatin accessibility and transcription factors, of which the latter respond for precise recognition of genome sequences. The abundant data on DNA-protein interactions for the first time make it feasible to approach to an exhaustive inventory of binding motifs, possibly recognized by human transcription factors. Five thousand ChIP-Seq experiments uniformly processed within the BioUML framework can be found in the GTRD database. By processing these data we constructed the new version of HOCOMOCO (Homo sapiens COmprehensive MOdel Collection), the curated collection of position weight matrix (PWM) models for binding sites for 680 human and 453 mouse TFs. ChIPMunk software was used for systematic motif discovery. To reduce the number of irrelevant motifs emerged due to indirect binding we performed extensive computer assessment and human curation. An interactive interface and bulk downloads are available on the web: <http://hocomoco.autosome.ru> and <http://www.cbrc.kaust.edu.sa/hocomoco11>. HOCOMOCO website includes a number of services designed for practical analyses in the fields of genetics and systems biology. Particularly, the cell type specific binding of transcription factors can be assessed by combining sequence motifs with results of chromatin accessibility assays, like DNaseI-Seq or ATAC-Seq experiments. Machine learning approaches can be used to solve the problem of data normalization in each particular cell type.

## ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ *IN SILICO* КОНТЕКСТНО-ЗАВИСИМЫХ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК СПЕЦИФИЧЕСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ САЙТОВ В СОСТАВЕ ГЕНОМНОЙ ДНК

Пономаренко М.П.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10.  
Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 2  
[pon@bionet.nsc.ru](mailto:pon@bionet.nsc.ru)

На основе теории аддитивной полезности для принятия решений и нечетких множеств создана компьютерная система Activity для интеллектуального анализа *in silico* выборок последовательностей сайтов в составе геномной ДНК с известными величинами специфической биологической активности и выявления контекстных, контекстно-зависимых конформационных и физико-химических характеристик В-формы ДНК, достоверно коррелирующих с анализируемой активностью таких сайтов, а также построения на этой основе регрессионных уравнений для предсказания такой активности по произвольным последовательностям ДНК. С помощью Activity впервые построены уравнения для предсказания величин сродства более 50 регуляторных белков к сайтам их связывания в составе геномной ДНК. Впервые построено регрессионное уравнение для репрессии генов человека транскрипционным фактором YY1 на основе оценки угла кручения спирали ДНК сайтов связывания этого белка. С помощью этого уравнения было впервые предсказано, что мутации 663G>A и 666G>T, ассоциированные с комплексом поведенческих расстройств человека и локализованные в интроне 6 гена *TDO2*, повреждают сайт связывания транскрипционного фактора YY1, что подтверждено экспериментально с помощью антител против транскрипционного фактора YY1. Выявлены достоверные корреляции равновесной константы диссоциации ТАТА-связывающего белка (ТВР) к олигоДНК длиной 15 нт с содержанием динуклеотидов WR и TV в однонитевой ДНК, а также с содержанием динуклеотида ТА и шириной малой бороздки дуплексов ДНК. На этой основе впервые предсказаны величины равновесной константы диссоциации комплекса ТВР/ДНК, которые были подтверждены независимыми экспериментами. Выявлены контекстные характеристики ДНК, достоверно коррелирующие с частотой повреждений ДНК по гуанинам под действием ультрафиолетового излучения с длиной волны 193 нм, на основе чего впервые получено регрессионное уравнение для предсказания частоты таких повреждений ДНК, прогнозы которого подтверждены независимым экспериментом. Выявлены достоверные корреляции между каталитической константой 8-оксогуанин-ДНК гликозилазы OGG1 человека и углом кручения спирали ДНК в окрестности 8-оксогуанина (охоG), а также между константой Михаэлиса этого фермента и изменением свободной энергии Гиббса в окрестности охоG. На этой основе впервые выведены регрессионные уравнения для оценки этих констант при частичном нарушении комплементарности ДНК вокруг охоG, прогнозы которых были подтверждены экспериментально.

**Благодарности:** Работа была выполнена благодаря поддержке Минобрнауки РФ по Программе повышения конкурентоспособности российских университетов среди мировых научно-образовательных центров (Проект 5-100) и бюджетного проекта № 0324-2019-0040.

## THE COMPREHENSIVE ANALYSIS OF MOTIFS CO-OCCURRENCE IN CHIP-SEQ DATA WITH MCOT PACKAGE

Levitsky V.G., Oshchepkov D.Yu, Zemlyanskaya E.V., Mironova V.V., Merkulova T.I.  
*Institute of Cytology and Genetics, Russia, Novosibirsk, Lavrentieva, 10.*  
[levitsky@bionet.nsc.ru](mailto:levitsky@bionet.nsc.ru)

Chromatin immunoprecipitation followed by massive sequencing (ChIP-seq) is the gold standard for the genome-wide search of the transcription factors (TFs) binding sites (motifs). The collaborative regulatory action of multiple TFs on gene expression motivates the definition of composite elements (CEs) as specific combinations of at least two motifs that exhibit qualitatively new properties, thus resulting in a new pattern of gene regulation; the participating motifs may be overlapping, or separated by a spacer [1]. For CEs prediction in ChIP-seq data two complementary approaches applied. The first one [2] implies the search of CEs with a spacer for a single ChIP-seq dataset, so that one of CE participants is immunoprecipitated (anchor) TF. The second approach [3] reveals CEs with a spacer or with an overlap of motifs through comparison of two ChIP-seq datasets for TFs participating in CE. Hence, a single ChIP-seq dataset is still is not sufficient for prediction of CEs with an overlap of motifs.

We propose a Motifs Co-Occurrence Tool (MCOT) that is capable of predicting CEs with both overlapping and spacing of motifs in a single ChIP-seq dataset. For an assigned anchor motif, MCOT tests a given partner motif, or it checks potential CEs of the anchor motif with a variety of partner motifs from external motifs library.

MCOT annotates the structure of potential CEs as follow. MCOT applies several thresholds for a recognition model of each motif; this allows prediction of CEs with various conservation of participating motifs. MCOT applies the accurate permutation procedure for background sequence generation that taking into account possible overlaps of anchor and partner motifs in foreground data. Thus, this novel procedure is universal for the detection of CEs with a spacer or an overlap of motifs. MCOT classifies CEs according to four possible mutual locations and orientations. MCOT uses the Fisher's exact test to estimate the significance of enrichment for various structural types of CEs. The filter of similarity for each anchor-partner pair allows effectively control the false positive rate. Application of MCOT to 153 mammalian ChIP-seq datasets for 51 distinct TFs have shown that predicted CEs with overlaps of motifs have approximately the same abundance as those with spacers. Moreover, we have shown that predicted CEs possess one more conservative "leading" motif and another one "guided".

**Acknowledgment:** The work was supported by Russian Foundation for Basic Research (Project 18-29-13040). The bioinformatics data analysis was performed in part on the equipment of the Bioinformatics Shared Access Center with the support of State Budgeted Project 0324-2019-0040.

1. Kel O.V., et al. A compilation of composite regulatory elements affecting gene transcription in vertebrates. // 1995, *Nucleic Acids Res.*, V. 23, P. 4097-4103.
2. Guo Y. et al. High resolution genome wide binding event finding and motif discovery reveals transcription factor spatial binding constraints. // 2012, *PLoS Comput Biol.*, 8:e1002638.
3. Whittington T. et al. Inferring transcription factor complexes from ChIP-seq data. // 2011, *Nucleic Acids Res.*, 39, e98.

## АННОТАЦИЯ ГЕНОМНЫХ ГРАФОВ

Петров С.Н.

*Московский физико-технический институт (Физтех), Россия, МО, город Долгопрудный, Институтский переулок, д.9*

*Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН (ИОГен РАН), Россия, Москва, улица Вавилов, д3.*

В настоящее время активно применяются алгоритмы обработки полногеномных данных, основанные на геномных графах. В работе описывается алгоритм улучшения качества аннотации графа сборки генома из данных NGS.

Предметом данной работы являются геномные графы – структуры данных для хранения и одновременной обработки множества альтернативных гаплотипов. В настоящее время активно развивается область применения их применения для анализа полногеномных данных.

Целью работы являлось создать алгоритм, который бы позволял находить большее количество путей с высоким белкокодирующим потенциалом, тем самым, улучшая качество аннотации сборки. В качестве объекта проверки гипотезы был выбран геном *Drosophila melanogaster*, как хорошо изученного модельного организма, была проведена его сборка с помощью программы SPAdes из NGS-данных, хранящихся в базе данных NCBI. Из полученного графа сборки были извлечены наиболее перспективные для аннотации пути, после чего эти пути и собранные с помощью SPAdes контиги были проаннотированы с помощью программы Genmark.

По итогам верификации был обнаружен значимый прирост кандидатов в гены. Показано, что эти гены хранятся в путях в графе, проходящих через большое количество точек ветвления и не входящих в собранные контиги.

Работа поддержана Российским научным фондом, грант №17-74-10013

## SOFTWARE TOOL FOR ANALYSIS OF POSSIBLE ALIGNER ARTEFACTS IN SEQUENCING

Dergilev A.I.<sup>1</sup>, Naumenko F.M.<sup>1</sup>, Luzin A.N.<sup>1</sup>, Abnizova I.I.<sup>2</sup>, Orlov Y.L.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Novosibirsk State University, 630090 Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup>*Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, UK*

<sup>3</sup>*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090 Novosibirsk, Russia*  
*arturd1993@yandex.ru; orlov@bionet.nsc.ru*

Development of next-generation sequencing (NGS) technologies produces an impressive amount of genomics data demanding development of novel computer tools. The production of gigabytes of sequencing data in a few hours presents ever-increasing demands on the quality and speed of processing. Mapping reads against a reference genome is typically the first step in analyzing next-generation sequencing data. It is an important step for further analysis, such as identification of protein binding sites from ChIP-sequencing data or variant calling. The quality and efficiency of mapping becomes critical. Hence the growing interest in benchmarking of short read aligners is clear. We compare set of tools (read aligners) and present software for sequencing quality estimates to reveal possible mapping artefacts [1].

A number of robust benchmarking surveys of short read aligners have been published. To reliably estimate these tools, simulated data is often used because of their predictability, reproducibility and manageability [2]. The use of artificial data to evaluate the performance of aligners and peak callers not only improves its accuracy and reliability, but also makes it possible to reduce the computational time. One of the natural ways to achieve such time reduction is by mapping a single chromosome. We investigated whether a single chromosome mapping causes any artefacts in the alignments' performances. Commonly used statistical methods are insufficient to evaluate an aligner performance and applied a novel measure of a read density distribution similarity, which allowed to reveal artefacts in aligners' performances. We also calculated some interesting mismatch statistics, and constructed mismatch frequency distributions along the read.

The generation of artificial data by mapping of reads generated from a single chromosome to a reference chromosome is justified from the point of view of reducing the benchmarking time. The proposed quality assessment method allows to identify the inherent shortcoming of aligners that are not detected by conventional statistical methods and can affect the quality of alignment.

**Acknowledgement.** The authors are grateful to ICG SB RAS budget project 0324-2019-0040 and RFBR for the work support.

### References:

- [1]. Naumenko F.M., Abnizova I.I., Beka N., Genaev M.A., Orlov Y.L., Novel read density distribution score shows possible aligner artefacts, when mapping a single chromosome. // 2018, BMC Genomics, V.19(Suppl 3), P.92. doi: 10.1186/s12864-018-4475-6
- [2] te Boekhorst R., Naumenko F.M., Orlova N.G., Galieva E.R., Spitsina A.M., Chadaeva I.V., Orlov Y.L., Abnizova I.I. Computational problems of analysis of short next generation sequencing reads. Vavilov journal of selection and breeding. // 2016, V.20(6), P.746-755 DOI 10.18699/VJ16.191

## DOMESTICATION AND DIVERSIFICATION IN CHICKPEA

Samsonova M<sup>1</sup>, Nuzhdin S<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Peter the Great St.Petersburg Polytechnic University, St.Petersburg, Russia,<sup>2</sup>University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

[m.samsonova@spbstu.ru](mailto:m.samsonova@spbstu.ru)

For many millennia, breeders have focused on selecting organisms with desirable phenotypes. With success in domestication of numerous crops came an incremental loss in adaptive variation. Genetic bottlenecks have become especially common for selfing species, including most grain legumes. Adaptive variation enabling efficient response of plants to biotic and abiotic stresses has been severely reduced. Genetic and adaptive variation has nearly disappeared from elite high-yielding cultivars. Hence, a broader genetic base would enable continuous production of new varieties that can be optimized for changing consumer demands, agricultural practices, and a wider climatic range. There is a need to tap wild species and more primitive landraces as sources of variation useful for improving elite varieties. However, there is also reluctance on the side of breeders to utilize wild material in crosses with elite cultivars, as their high yielding properties become strongly diminished in wide crosses. Paradoxically, this is not a reflection of the value of wide crosses, which can be high, but rather the difficult task of de-convoluting and prioritizing genetic effects.

The answer is in model-based approach, where important phenotypes are dissected to their underlying genetic basis, including large-effect genes and whole-genome smaller-effect contributions. Ideally, one would enumerate beneficial alleles segregating in wild populations, identify alleles that played a role in initial domestication and subsequent diversification, and then figure how this standing variation and new mutations were combined in elite varieties. This knowledge could then be used to optimize cross-breeding, for example by allowing for *a priori* weights on different genes and variants to be incorporated into marker-assisted and genomic-selection programs. Recent advances in chickpea genomics, breeding, and phenotyping open an opportunity for developing such an integrated approach.

**Acknowledgements:** Supported by the RFFI grant 18-29-13033

## ИЗУЧЕНИЕ ЗАЦВЕТЕНИЯ *ARABIDOPSIS THALIANA* С ПОМОЩЬЮ ТРАНСКРИПТОМОВ МЕРИСТЕМ И ЛИСТЬЕВ

Клепикова А.В.<sup>1</sup>, Пенин А.А.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем передачи информации РАН, Москва, Россия, 127051, Большой Каретный переулок, д.19 стр. 1; <sup>2</sup>Казанский федеральный университет, Казань, Россия, 420008, ул. Кремлёвская, 18; <sup>3</sup>Московский Государственный Университет им. Ломоносова, Москва, Россия, 119234, Ленинские горы, д. 1, стр. 12.

[annklepikova@gmail.com](mailto:annklepikova@gmail.com)

Переход к цветению является крайне важным этапом в жизни растений, а для однолетников, таких, как *Arabidopsis thaliana*, в большой степени определяет репродуктивный успех. Своевременность зацветания контролируется сложным сочетанием внешних и внутренних стимулов и генетического контроля. Основа сетей генетической регуляции перехода к цветению хорошо охарактеризована с помощью изучения мутантов и трансгенных линий с нарушением зацветания, однако к настоящему времени существует ограниченное число работ, посвященных полнотранскриптомной динамике в ходе переключения развития растения с вегетативного на репродуктивное.

В нашей предыдущей работе, посвященной созданию и анализу временной серии транскриптомов апикальных меристем (АМ) побега *A. thaliana* в условиях длинного дня (ДД, 16 ч. света/8 ч. темноты), была обнаружена стадия развития между 10 и 12 днем после прорастания, когда экспрессия основного репрессора зацветания *FLC* и основного активатора *LFY* находится на одном уровне [1]. На этой стадии экспрессия генов, связанных с регуляцией и протеканием клеточного цикла, синхронно меняется, что может свидетельствовать об ускорении клеточных делений и частичной синхронизации клеточного цикла.

Для дальнейшего изучения перехода к цветению нами были собраны временная серия листьев в условиях ДД, а также серии АМ и листьев в условия короткого дня (КД, 8 ч. света/16 ч. темноты) для получения комплементарного набора данных с отсутствием светового стимула. Сравнение профилей транскрипции коэкспрессирующихся генов в АМ в условиях КД и ДД позволило определить ключевые этапы полнотранскриптомных изменений, происходящих под действием световой индукции, а серии листьев в обоих условиях позволили рассмотреть пути получения и проведения светового сигнала и выстроить полную сеть генетической регуляции перехода к цветению.

Для изучения изменений генетической регуляции зацветания в ходе эволюции удобным объектом является аллотетраплоид *Capsella bursa-pastoris* из-за своей близости к *A. thaliana* и недавней полиплоидизации. Нами была проанализирована временная серия АМ *C. bursa-pastoris* и рассмотрено взаимодействие паралога при зацветании.

[1] Klepikova A.V., Logacheva M.D., Dmitriev S.E., Penin A.A., RNA-seq analysis of an apical meristem time series reveals a critical point in *Arabidopsis thaliana* flower initiation. // 2015, BMC Genomics, V.16, P.466.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Philip Morris Research fellowship in Systems Biology и РФФИ грант № 18-34-00682.

## ДИНАМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ГЕННОЙ СЕТИ ВРЕМЕНИ ЦВЕТЕНИЯ В НУТЕ

Гурский В.В.<sup>1,2</sup>, Козлов К.Н.<sup>1</sup>, Нуждин С.В.<sup>1,3</sup>, Самсонова М.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Россия, Санкт-Петербург, Политехническая ул. 28; <sup>2</sup>Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе, Россия, Санкт-Петербург, Политехническая ул. 26; <sup>3</sup>Университет южной Калифорнии, США, Лос-Анджелес, 3616 Trousdale Parkway, AHF 107

[gursky@math.ioffe.ru](mailto:gursky@math.ioffe.ru)

Инициация цветения связана с переходом растения от вегетативного к репродуктивному развитию. Возможность управлять временем цветения у сельскохозяйственных культур является важным для контроля их продуктивности. Основная генетическая регуляторная сеть, определяющая переход к цветению, широко изучена в модельном растении *Arabidopsis thaliana*. Основные регуляторные блоки этой сети являются консервативными и присутствуют у других видов, в частности у бобовых. Активация гена *FLOWERING LOCUS T (FT)* или его гомологов трансформируется с помощью генной сети времени цветения в сигнал о начале цветения, выраженный как высокая экспрессия генов идентичности цветочной меристемы, прежде всего гена *API*. Была разработана динамическая модель этой регуляторной сети в применении к ранее опубликованным данным экспрессии всех вовлечённых генов из двух сортов нута (*Cicer arietinum*; сорта CDC Frontier и ICCV 96029) [1, 2]. Модель была применена для тестирования нескольких альтернативных гипотез о регуляторных ролях пяти гомологов *FT*, присутствующих в нуте. В результате показано, что отдельные копии *FT* никак не выделены с точки зрения различий в регуляторных параметрах в рамках модели. Этот результат соответствует гипотезе о том, что рассмотренные пять генов обладают схожими регуляторными свойствами и аддитивно участвуют в активации в сети. Также анализ модели показал, что разная сила активации со стороны гена *API* может объяснить небольшую разницу, наблюдаемую в экспрессии двух гомологов цветочного репрессора *TFL1*. Модель предсказывает очень низкую взаимную активацию между генами *LFY* и *API*, что может свидетельствовать, что этот регуляторный блок не сохраняется у нута и нуждается в других механизмах. В целом, исследование представляет собой первую попытку количественно исследовать генную сеть цветения в нуте на основе данных экспрессии.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 18–29–13033.

[1] Deokar A., Lee R., Daba K., Macknight R.C., Tar'an B., The chickpea Early flowering 1 (Efl1) locus is an ortholog of arabidopsis ELF3. // 2017, Plant Physiol., V.175, P.802–815.

[1]. Gursky V.V., Kozlov K.N., Nuzhdin S.V., Samsonova M.G., Dynamical modeling of the core gene network controlling flowering suggests cumulative activation from the FLOWERING LOCUS T gene homologs in chickpea. // 2018, Front. Genet., V.9, 547.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АУКСИНА ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ МЕРИСТЕМЫ КОРНЯ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Савина М.С.<sup>1,2</sup>, Миронова В.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева 10;

<sup>2</sup>Новосибирский Государственный Университет, г. Новосибирск, ул. Пирогова 1

*victoria.v.mironova@gmail.com*

Процессы регенерации у растений контролируется фитогормоном ауксином. Ауксин распределяется по ткани диффузией и полярным активным транспортом и формирует неравномерные распределения с максимумами и градиентами концентраций, критически необходимыми для регуляции морфогенетических процессов. Известно, что ауксин регулирует экспрессию своих белков транспортеров семейства PIN, а регенерации ткани предшествует восстановление паттернов PIN и ауксина [1].

Мы разработали инструменты для компьютерного анализа распределения ауксина в двумерной ткани реалистичной структуры и применили их для исследования процессов регенерации в меристеме корня *Arabidopsis thaliana*. Программа PlantLayout создает структурную модель поврежденной ткани и выдает количественные и качественные характеристики всех клеток и клеточных стенок клеточного ансамбля. Далее на основе созданной ранее и адаптированной в данной работе математической модели распределения ауксина [1] проводится расчет распределения ауксина по структурной модели. В результате компьютерного анализа получены новые знания о механизмах регенерации меристемы корня после декапитации и селективной гибели клеток в ответ на холод. Данные проверены экспериментально.

[1]. Mironova V.V. Combined in silico/in vivo analysis of mechanisms providing for root apical meristem self-organization and maintenance // 2012, An Bot., 110(2), P.349-360.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ 18-34-00485, РФФ 18-74-10008.

## ЭВОЛЮЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ГЕННЫХ СЕТЕЙ АБИОТИЧЕСКОГО СТРЕССА РАСТЕНИЙ

Лашин С.А.<sup>1,2</sup>, Мустафин З.С.<sup>1</sup>, Замятин В.И.<sup>1,2</sup>, Константинов Д.К.<sup>1,2</sup>, Дорошков А.В.<sup>1</sup>, Афонников Д.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, 630090, г. Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, 10.

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1.

[lashin@bionet.nsc.ru](mailto:lashin@bionet.nsc.ru)

Растения ведут неподвижный образ жизни и поэтому не могут избежать воздействия стрессовых факторов окружающей среды. В процессе эволюции они развили способность адаптироваться к стрессу. Изучение механизмов приспособления растений к неблагоприятным условиям, а также их ответа на стресс вызывает большой интерес в связи с возможностью использования результатов для создания новых сортов и линий растений, устойчивых к стрессу. Стрессовые воздействия неживой природы разнообразны и включают такие факторы, как высокая или низкая температура, засуха, засоленность почвы, затопление. Ответ растений на эти факторы является комплексным, как по физиологическим и молекулярным системам, вовлеченным в такой ответ, так и по активации этих систем во времени в процессе стрессового воздействия.

Изучение стрессового ответа на молекулярном уровне для разных типов воздействий позволило идентифицировать гены, которые активируются в ответ на различные типы стресса, динамику изменения их экспрессии в процессе ответа на стресс, механизмы регуляции экспрессии генов реконструировать структуру взаимодействий генов в сетях стрессового ответа. С помощью приложения Orthoscape [1] для программного комплекса Cytoscape [2] был проведен эволюционный анализ полученных генных сетей для *Arabidopsis thaliana*. В частности, исследовались филостратиграфические индексы генов (оценивающие эволюционное время их происхождения) и индекс Ka/Ks (оценивающий скорость и направление отбора) [3]. Анализ показал значимое превышение доли эволюционно древних генов (общих для всех эукариот) в генных сетях стресса относительно их доли в геноме арабидопсиса. В генной сети ответа на световой стресс выделяется группа генов, время возникновения которых соответствует времени появления сосудистых растений. Сравнение механизмов ответа растений на различные типы стрессов показывает, что несмотря на различия, в структурах этих генных сетей можно выделить ряд общих блоков.

[1]. Mustafin Z.S. et al. Orthoscape: a cytoscape application for grouping and visualization KEGG based gene networks by taxonomy and homology principles. // 2017, BMC Bioinformatics 18: 1–9. DOI: 10.1186/s12859-016-1427-5

[2]. Shannon P. et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks // 2003, Genome Research 13(11): 2498-504. DOI: 10.1101/gr.1239303

[3]. Mustafin Z.S. et al. Phylostratigraphic Analysis Shows the Earliest Origination of the Stress Associated Genes in *A. thaliana*. // 2018, Preprints, 2018110352. DOI: 10.20944/preprints201811.0352.v1.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-14-00293.

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ И МЕТА-ТРАНСКРИПТОМИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ ФЕРМЕНТОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ

Дорошков А.В.<sup>1,2</sup>, Бобровских А.В.<sup>1,2</sup>, Константинов Д.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

<sup>2</sup>НГУ, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

[ad@bionet.nsc.ru](mailto:ad@bionet.nsc.ru)

Активные формы кислорода (АФК) являются одними из наиболее опасных факторов для живых систем. Клетки продуцируют АФК во время реакций нормального метаболизма, но их производство увеличивается в стрессовых условиях. Улучшение антиоксидантной системы культурных растений повысит их толерантность к абиотическим стрессам. Однако, компоненты системы являются избыточными, поскольку каждая реакция катализируется серией (до 10) ферментов, кодируемых различными генами. Выбор наиболее перспективных компонентов этой системы поможет ускорить разработку оптимальной стратегии отбора для повышения толерантности к абиотическим стрессам в экономически значимых видах растений. Вместе с тем система является интересной с фундаментальной точки зрения как модель многокопийной ферментативной системы со сложной регуляцией.

Мы представляем результаты интегративного анализа характеристик, связанных с эволюцией и экспрессией мРНК генов антиоксидантной системы. Работа выполнена на серии генов, которые принадлежат к основным функциональным группам (APX, GPX, SOD, CAT и т. д.) ферментативных компонент системы антиоксидантной защиты. Мы использовали набор видов растений, состоящий из представителей цветковых, голосеменных, мхов и видов зеленых водорослей. Кроме того, мы учли данные о клеточной локализации конкретных ферментов и активности компонентов системы в благоприятных условиях и в ответ на стресс. В результате более 50 групп ортологичных генов были описаны с точки зрения скоростей накопления замен, экспрессии и клеточной локализации. Данные филогенетического анализа говорят в пользу теории о том, что большая часть диверсификации отдельных компонентов антиоксидантной системы и их распределение между клеточными компартментами происходили на ранних стадиях эволюции растений задолго до появления многоклеточности. Значительные различия найдены между генами в давлении стабилизирующего отбора и уровнях экспрессии мРНК. Особенности экспрессии выявили стабильность от вида к виду, но имеют некоторые различия между двудольными и однодольными растениями.

Было обнаружено, что самый высокий уровень экспрессии генов и наибольшее давление очищающего отбора характеризуют конкретные, «мажорные» копии каждого ферментативного класса. Поскольку эти гены подвергаются наиболее консервативной эволюции и имеют самый высокий уровень экспрессии мРНК, мы можем предположить, что они вносят наибольший вклад в работу антиоксидантной системы изучаемых растений.

Исследование проводилось в рамках проекта РФФ №17-74-10198

## SPATIAL-TEMPORAL MULTISCALE MODELLING AND SIMULATION OF VASCULAR TUMOUR GROWTH – DEVELOPMENT OF NEW MULTICELLULAR SIMULATORS BASED ON HYBRID PARALLELISATION OF CENTRAL AND GRAPHICAL PROCESSOR UNITS

Reuss M., Lapin A.,

*Stuttgart Research Center Systems Biology, University Stuttgart, Germany*

Multiscale modelling and simulation in systems medicine is an emerging methodology and discipline to tackle the enormous challenges posed by complex diseases. Cancer modelling is an important example for solving problems which have important features at multiscale of time and space. The presentation aims at the application of a 3D multiscale hybrid discrete-continuum model to simulate angiogenesis and vascular tumour growth [1]. The model is based on a cellular automaton approach and couples the dynamics of intracellular processes at the subcellular level, active cell movement, cell-cell interaction, extracellular diffusion, and a dynamically evolving vascular network. The model nicely mirrors the complex interplay between subcellular events and the macroscopic level of the tumour. However, it is an exclusively theoretical picture. The challenging computational problems we are faced with are related to the simulation of larger tumours taking into account the structure of the tissue and blood supply consisting of millions of interacting cells, picturing the architectures of real tissues, e.g. liver lobules, validating the theoretical findings with aid of imaging and simulations of therapies for larger patient communities, to name a few. The lecture aims at introducing new hardware and software developments applicable to multiscale modelling based on the strategy of structural consistency between the multiscale structure of the model and the architecture of the computer hardware to efficiently solve the problems of interactions between subcellular and tissue levels. The presentation summarizes efforts made to create multicellular simulators based on hybrid structures of parallelised graphic and central processors.

First applications of this new hard – and software concepts are fully detailed in the lecture. The examples include simulations of larger tumours, link with dynamic models of metabolism of tumour cells and simulating the 3D architectures of liver lobules including blood supply via venous and arterial vessels including the implementation of a 3D growing and vascularized tumour.

(1) Perfahl, H., Byrne, H., Chen, T., Estrella, V., Alarcon, T., Lapin, A., Gatenby, R.A., Gillies, R.J., Lloyd, M.C., Maini, P.K., Reuss, M., Owen, M.R. (2011): Multiscale Modelling of Vascular Tumour Growth in 3D: The role of domain size and Boundary conditions. PLoS one, 6, e14790.

## EFFECT OF ENVIRONMENTAL STRESS ON LEGUME-RHIZOBIAL SYMBIOSIS: COMPLEMENTATION OF THE PROTEOMICS APPROACH WITH COMPREHENSIVE METABOLITE PROFILING

Bilova T.,<sup>1,2</sup> Chantseva V.,<sup>1,3</sup> Dorn M.,<sup>2</sup> Tsarev A.,<sup>2,3</sup> Lukasheva E.,<sup>3</sup> Osmolovskaya N.,<sup>1</sup> Soboleva A.,<sup>2,3</sup> Grishina T.,<sup>3</sup> Zhukov V.A.,<sup>4</sup> Balcke G.U.,<sup>4</sup> Tikhonovich I. A.,<sup>5,6</sup> Wessjohann L. A.,<sup>2</sup> Frolov A.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg State University, Department of Plant Physiology and Biochemistry, <sup>2</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry, <sup>3</sup>St. Petersburg State University, Department of Biochemistry, <sup>4</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Cell and Metabolic Biology, <sup>5</sup>The All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Department of Biotechnology, and <sup>6</sup>St. Petersburg State University, Department of Genetics and Biotechnology

Due to the oncoming global climate changes, drought becomes the most critical factor, negatively affecting crop yields. In case of legume crops, water deficit affects plant-rhizobial symbiosis, dramatically reducing plant productivity. As legume crops contribute essentially in human diet, this problem becomes a global issue. Therefore, sustaining the efficiency of legume-rhizobial symbiosis under drought conditions needs to be secured. For this, comprehensive understanding of the molecular mechanisms underlying drought-related changes in nodules is required. Therefore, to get a deeper insight in nodule metabolism, we complemented a global proteomic analysis of rhizobial and plant symbiosis partners with comprehensive metabolite profiling. Here, we consider this aspect in more detail. For this, pea plants were subjected to experimental drought (2% w/w aq. polyethyleneglycol, 2 days) at the stage of seed maturation. The nodules were extracted with water-methanolic, acidic water-ethanolic, dichloromethane and tetrahydrofuran to obtain fractions of (i) primary metabolites, (ii) key players of energy metabolism, and (iii) secondary semi-polar metabolites, respectively. The resulted extracts were analyzed with gas chromatography-electron ionization-quadrupole-mass spectrometry (GC-EI-Q-MS), ion-pair-reversed phase-ultra high performance liquid chromatography - electrospray ionization – triple quadrupole MS/MS (IP-RP-UHPLC-ESI-QqQ-MS) and RP-UHPLC-ESI-quadrupole-time of flight (QqTOF)-MS (positive and negative ion modes), respectively. Data processing relied on an integrative workflow, combining AMDIS, OpenChrome, Xcalibur and LCQuan software, as well as Metfamily and Metaboanalyst on-line tools. Metabolite profiling revealed in total 40 regulated metabolites, many of which were annotated by spectral similarity search as lipids and fatty acids. Remarkably, the most of the primary and energy metabolites only minimally responded to applied short-term drought. On one hand this result might indicate low effect of short-term drought on nodule energy balance. On the other hand, changes in fatty acid and lipid balance might play a regulatory role. The research was supported by the Russian Science Foundation (project 17-16-01042).

## PREDICTION OF REGULATORY SEQUENCE VARIANTS USING DATA FROM MULTIPLE PARALLEL REPORTER ASSAYS

Penzar D. D, Zinkevich A.O, Vorontsov I.E, Sitnik V.V., Favorov A.V, Makeev Vsevolod J., Kulakovskiy I. V.

*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Gubkina 3, Moscow, GSP-1, 119991, Russia*

*Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1-73, Moscow, 119234, Russia*

*127490, Russia, Moscow, Pestelya street 7*

*[dmitrypenzar1996@gmail.com](mailto:dmitrypenzar1996@gmail.com)*

Prediction of SNPs effect on gene expression is one of the most important challenges of contemporary genomics. The approaches found for tackling this problem could further be used in personalized medicine.

We used modern methods of machine learning and the information from reporter constructions to detect the effect of SNPs occurring in regulatory regions of genome on the expression of genes under the control of these regions. Data from different sources was used as features to train the machine learning algorithm: epigenetic marking ( DNase-Seq, ATAC-Seq, ChIP-seq), motifs analysis (Perfectos-APE, HOCOMOCO) and features extracted from the results of other machine learning algorithms. The examples of such features are the information extracted from the last layer of DeepSEA neural network and the estimation of different models built with support-vector machines by deltaSVM. The training dataset of CAGI competition contained information from different regions of 14 reporter constructions. The validation dataset was compiled from the same constructions but only the regions not used for training dataset were included. Comparing models built on different features we showed that DeepSEA features gives the better prediction compared with the published results of the competition “CAGI2018 – Regulation Saturation”.

The high quality of prediction, as we show here, can be explained by the leakage of the information from neighboring regions of reporter constructions used in the training dataset. The elimination of predicted reporter region from the training dataset significantly decreased the quality of predictions for that reporter – sometimes even to the level of random prediction in some cases.

Validation of data from two independent reporters confirmed that the data leakage makes a big contribution to the final quality.

The minimization of such leakage during the training of the model is promising for further investigation. It could be done with the combination of different predictors or using the metapredictors (predictors that use the information from other predictors) and search for another sources of validation data.

### Links:

1. The Critical Assessment of Genome Interpretation. <https://genomeinterpretation.org>
2. Massively parallel functional dissection of mammalian enhancers in vivo. Patwardhan P. P. et al., 2012
3. PERFECTOS-APE - Predicting Regulatory Functional Effect of SNPs by Approximate P-value Estimation. Vorontsov et al., 2015
4. HOCOMOCO: towards a complete collection of transcription factor binding models for human and mouse via large-scale ChIP-Seq analysis. Kulakovskiy et al., 2017
5. Convolutional neural network architectures for predicting DNA–protein binding. Zeng et al., 2016
6. A method to predict the impact of regulatory variants from DNA sequence. Lee et al., 2015

## RECONSTRUCTION OF ASSOCIATIVE GENE NETWORKS BASED ON AUTOMATIC EXTRACTION OF KNOWLEDGE FROM SCIENTIFIC PUBLICATIONS, PATENTS AND DATABASES USING INTELLIGENCE METHODS

Ivanisenko V.A.<sup>1</sup>, Tiys E.S.<sup>1</sup>, Ivanisenko T.V.<sup>1</sup>, Demenkov P.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> THE FEDERAL RESEARCH CENTER INSTITUTE OF CYTOLOGY AND GENETICS The Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia, Novosibirsk, Prospekt Lavrentyeva 10 [salix@bionet.nsc.ru](mailto:salix@bionet.nsc.ru)

Reconstruction and analysis of gene networks is a well-known technique for the describing of molecular mechanisms of biological systems functioning in normal and pathological conditions. However, the reconstruction process based on the manual expert analysis is very time consuming. As a rule, the reconstruction of even relatively small networks requires an analysis of many thousands of scientific publications, as well as a large number of databases. The ANDSystem computer tool, developed in ICG SB RAS, is based on the data mining techniques and designed for the automated knowledge extraction from texts of scientific publications and databases [1]. Using the developed system more than 25 million of scientific publications from PubMed and several dozens of external databases were analyzed. The results of the analysis are stored in the knowledge base of ANDSystem, which contains more than 30 million of facts describing molecular-genetic interactions, expression regulation, activity, transport, catalytic reactions, and gene-disease associations. All interactions are described at the level of the organisms, as well as cells and tissues. The ANDVisio tool provides user access to the knowledge base of ANDSystem and allows the graphical reconstruction and analysis of gene networks. One of the features of ANDSystem is the possibility of reconstruction of gene networks specifically related to the analyzed process with taking into account of the various properties of the graph nodes, including centrality and specificity. Maximization of values of these properties in the reconstruction process provides an increase in the connectivity of genes within the gene network. The functionality of such networks is confirmed by the fact that Gene Ontology process gene networks are more connected than random networks. The functionality of such networks is confirmed by the fact that gene networks of Gene Ontology process are more connected than random networks.

[1]. Ivanisenko V.A., Demenkov P.S., Ivanisenko T.V., Mishchenko E.L., Saik O.V., A new version of the ANDSystem tool for automatic extraction of knowledge from scientific publications with expanded functionality for reconstruction of associative gene networks by considering tissue-specific gene expression. // 2019, BMC Bioinformatics., V.20(Suppl 1), H.34.

**Acknowledgments:** The work was carried out with the support of the State Budgeted Project № 0324-2019-0040 «Genetic basis of biotechnology and bioinformatics»

## CAN SUBSTITUTIONS IN MITOCHONDRIAL PROTEIN SEQUENCE HAVE ADAPTIVE SIGNAL? CASE STUDY OF VOLES AND LEMMINGS, SUBFAMILY ARVICOLINAE, RODENTIA

Bondareva O.<sup>1</sup>, Potapova N.<sup>2,3</sup>, Abramson N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zoological Institute RAS, Saint-Petersburg, University emb. 1;

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Leninskie Gory 1

<sup>3</sup>Institute for Information Transmissions Problems, Moscow, Bolshoy Karetny per. 19, build.1

[olga.v.bondareva@gmail.com](mailto:olga.v.bondareva@gmail.com)

In conventional molecular phylogenetic studies using cytochrome b as molecular marker little attention has been paid to the molecular adaptation of proteins encoded by mitochondria, although variation in protein-coding genes involved in oxidative phosphorylation (OXPHOS) can directly influence metabolic performance. Despite strong functional constraints, mtDNA may be subject to positive directional selection in response to pressures resulting from greater energy requirements or limited oxygen availability. Many studies provide support for instances of adaptive selection in mammalian mitochondrial protein-coding genes. Sequence variation in CytB was shown to be correlated with differences in ecological niches among chromosomal races of blind mole-rats *Spalax ehrenbergi*, and with the metabolic shift in cetaceans relative to their terrestrial ancestors. No studies of this kind were ever held in the subfamily Arvicolinae though its representatives show remarkable examples of independent parallel adaptations among phylogenetically distant species and contrasting ecological adaptations within sister taxa.

In the current study we used all CytB sequences from NCBI database available for Arvicolinae as a source for amino acid substitution data. We have aligned all proteins with Geneious software and looked for the parallel substitutions among fossorial species of the subfamily versus terrestrial ones. Besides, we paid attention to the distribution density of protein substitutes.

The research was supported by the RFBR 18-04-00730, RAS research projects AAAA-A17-117042410167-2, Programs of Presidium RAS “Dynamics of gene pools in natural populations” and “Development of vital and biosphere processes”.

## КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ ЧЕЛОВЕКА

Акбердин И.Р.<sup>2,3</sup>, Киселев И.Н.<sup>1,2</sup>, Вертышев А.<sup>4</sup>, Попов Д.В.<sup>5</sup>, Колпаков Ф.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт вычислительных технологий СО РАН, Россия, Новосибирск; <sup>2</sup>ООО «БИОСОФТ.РУ», Россия, Новосибирск; <sup>3</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Россия, Новосибирск; <sup>4</sup>ЗАО "СИТЭС-ЦЕНТР", Россия, Москва; <sup>5</sup>ФГБУ Государственный научный центр Российской Федерации, Институт медико-биологических проблем РАН, Россия, Москва;

[akberdinir@developmentontheedge.com](mailto:akberdinir@developmentontheedge.com)

Скелетные мышцы составляют более 30% от веса тела и играют одну из ключевых ролей в регуляции углеводно-жирового обмена, метаболических и энергетических процессов на уровне всего организма. Это связано с тем, что во время физической нагрузки в скелетной мышце происходят выраженные метаболические изменения: значительно увеличивается мышечный кровоток и скорость потребления  $O_2$ , изменяется соотношение АТФ к АДФ и происходит накопление различных метаболитов. В свою очередь, метаболиты и цитокины, выделяемые работающей мышцей во время и после сократительной активности, положительно регулируют работу различных систем и органов [1]. Поэтому описание вызванных сократительной активностью метаболических изменений в скелетной мышце является фундаментальной задачей. Несмотря на активное развитие высокопроизводительных экспериментальных технологий, позволяющих проводить измерения концентрации метаболитов, экспрессии белков и мРНК на уровне единичной клетки, к настоящему времени данные, полученные на скелетных мышцах человека *in vivo*, представляют собой усредненные количественные показатели содержания основных метаболитов и энергетических молекул. Более того, совершенно отсутствуют данные о динамических различиях в концентрациях этих соединений, активности ключевых ферментов в различных компартментах клетки при переходе от покоя к физической нагрузке и во время восстановления после упражнения [2]. В этой связи метод математического моделирования предоставляет уникальную возможность для преодоления указанных выше проблем [3]: теоретическую платформу для исследования на количественном уровне динамических ответов и механизмов регуляции работы скелетной мышцы в норме и при различных стрессовых условиях: например, при ишемии или физической нагрузке. В данной работе мы представляем анализ обновленной версии многокомпарментной математической модели, описывающей функционирование скелетной мышцы в норме и внутриклеточный ответ при умеренных физических нагрузках (60-70% от максимальной скорости потребления  $O_2$  организмом). В отличие от разработанной ранее модели [2] предложено модульное представление комплексной модели, и впервые рассмотрен один из ключевых механизмов внутриклеточной сигнализации, активируемый при сократительной активности: АМПК-зависимый сигнальный путь с учетом особенностей, характерных для скелетных мышц животных и человека.

[1]. Pedersen B.K. & Febbraio M.A., Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. // 2012, Nat. Rev. Endocrin., V. 8, №8, P. 457-465.[2]. Li Y. et al., Role of NADH/NAD<sup>+</sup> transport activity and glycogen store on skeletal muscle energy metabolism during exercise: *in silico* studies. // 2009, Am. J. Physiol.-Cell Physiol., V. 296, №1, P. 25-46.[3]. Akberdin I.R. et al., *In Silico* Cell: Challenges and Perspectives. // 2013, Math. Biol. & Bioinf., V.8, №1, P. 295-315.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 17-00-00308 (К) и № 17-00-00296).

## COMPARATIVE GENOMICS OF *BACILLUS THURINGIENSIS* REVEALS NEW FEATURES DETERMINING THE HOST-SPECIFICITY OR EFFICIENCY OF TOXIN PRODUCTION

Antonets K.S.<sup>1,2</sup>, Malovichko Yu.V.<sup>1,2</sup>, Afonin A.A.<sup>1</sup>, Belousova M.E.<sup>1</sup>, Ermolova V.P.<sup>1</sup>,  
Grishechkina S.D.<sup>1</sup>, Nizhnikov A.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Russia, Pushkin, St. Petersburg, sh. Podbelskogo, 3; <sup>2</sup>St. Petersburg State University, Russia St. Petersburg, Universitetskaya emb., 7-9  
[k.antonets@arriam.ru](mailto:k.antonets@arriam.ru)

*Bacillus thuringiensis* (*Bt*) is a Gram-positive bacterium widely known as a natural pathogen of different orders within *Insecta*, *Nematoda* and *Mollusca*. Its unique feature is production of a variety of highly specific toxins mostly of proteinaceous nature, which are stored in very stable parasporal bodies. To date, more than 700 different toxin variants are known, which fall into at least five major groups. Each strain of *Bt* can produce several different toxins, which determine the pathogenic properties of these bacteria. Due to these features and safety for humans, *Bt* are widely used in pest control as biopesticides. At the same time, little is known about the molecular mechanisms determining high host-specificity and efficiency of different *Bt* strains. In this work, we perform comparative genomic analysis of strains from the collection of All-Russia Research Institute of Agricultural Microbiology (ARRIAM), which can infect different orders of insects including *Lepidoptera*, *Coleoptera* and *Diptera*, and some of them show multi-host specificity. Notably, some of the strains analyzed lack the ability to produce parasporal bodies, which allowed us to compare virulent and avirulent *Bt* variants. The whole genome sequencing of the strains was performed using Illumina and Oxford Nanopore platforms. The hybrid assemblies of the genomes allowed us to identify differences between the protein sequences of toxins in these strains, which might explain their host-specificity, and the genomic regions and the replicons, which are responsible for the production of toxins, virulence factors and formation of parasporal bodies. Taking together, the data obtained shed light on the mechanism of specificity and efficiency of the *B. thuringiensis* strains.

**Acknowledgments:** This work is supported by the Russian Science Foundation (Grant No 18-76-00028).

**Симпозиум IV: Генетика человека / Symposium IV: Human Genetics****ПОПУЛЯЦИОННАЯ ГЕНОМИКА ЧЕЛОВЕКА И ЭВОЛЮЦИОННАЯ МЕДИЦИНА**Степанов В.А.<sup>1</sup><sup>1</sup>*Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского НИМЦ РАН, Россия, Томск, Набережная Ушайки, 10**[vadim.stepanov@medgenetics.ru](mailto:vadim.stepanov@medgenetics.ru)*

Классическое представление о том, что популяционная генетика человека является основой генетики болезней в эпоху «больших данных» не только остается актуальным, но и наполняется новым содержанием. Действительно, секвенирование полных геномов в различных этно-популяционных группах дает информацию о вариабельности генетической компоненты болезней человека в мировых популяциях. А постгеномные технологии (эпигеномика, транскриптомика, протеомика) позволяют анализировать процессы реализации вариабельной генетической информации в фенотип, включая патологические фенотипы (болезни). Иными словами, становится возможным проследить путь от генома к феному как на системном уровне (геном в целом), так и через тщательную детализацию структуры генетической вариабельности, паттернов эпигенетической регуляции, геной экспрессии для конкретных звеньев патогенетической цепочки. С точки зрения перехода к персонализированной медицине, анализ геномных и постгеномных данных, полученных на популяционном уровне, создает потенциал для индивидуализации через интерпретацию индивидуальных особенностей генома, эпигенома, транскриптома и других «омов» в популяционном контексте. В докладе будут представлены данные о генетическом разнообразии в популяциях России на уровне полных геномов. Будет представлены результаты поиска сигналов естественного отбора в геноме современного человека и связи геномной вариабельности с болезнями человека в рамках некоторых современных концепций эволюционной биологии и медицины.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты 18-29-13045 и 18-04-00758)

## ADVENTURES WITH LARGE BIOMEDICAL DATASETS: DISEASES, MEDICAL RECORDS, ENVIRONMENT AND GENETICS

Rzhetsky A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*University of Chicago, USA, Chicago, IL, 900 East 57th Street, KCBD 10160A.*

*andrey.rzhetsky@uchicago.edu*

I will attempt to cover several interrelated analysis topics, spending more time on parts that resonate with the audience.

First, I will introduce our recent study analyzing phenotypic data harvested from over 150 million unique patients. Curiously, these non-genetic large-scale data can be used for genetic inferences. We discovered that complex diseases are associated with unique sets of rare Mendelian variants, referred to as the “Mendelian code.” We found that the genetic loci indicated by this code were enriched for common risk alleles. Moreover, we used probabilistic modeling to demonstrate for the first time that deleterious Mendelian variants likely contribute to complex disease risk in a non-additive fashion.

The second topic that I hope to cover is analysis of apparent clusters of neurodevelopmental disorders. Disease clusters are defined as geographically compact areas where a particular disease, such as a cancer, shows a significantly increased rate. It is presently unclear how common are such clusters for neurodevelopmental maladies, such as autism spectrum disorders (ASD) and intellectual disability (ID). As in the first story, examining data for one third of the whole US population, we demonstrated that (1) ASD and ID are manifesting strong clustering across US counties; (2) counties with high ASD rates also appear to have high ID rates, and (3) the spatial variation of both phenotypes appears to be driven by environment, and, by a lesser extent, by economic incentives at the state level.

The third topic is about using electronic medical record data to 1) estimate the heritability and familial environmental patterns of diseases, and 2) infer the genetic and environmental correlations between disease pairs from a set of complex diseases. I am particularly interested in inferring objective classifications// of diseases (based on a formal optimization criterion), separately from environmental and genetic factors.

## ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ КОГНИТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ В НОРМЕ И ПРИ ПСИХОПАТОЛОГИЯХ.

Хуснутдинова Э.К.<sup>1</sup>, Еникеева Р.Ф.<sup>1</sup>, Казанцева А.В.<sup>1</sup>, Малых С.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, Уфа, пр. Октября, д. 71;

<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Россия, Москва, ул. Моховая, д. 11;

[elzakh@mail.ru](mailto:elzakh@mail.ru)

Изучение когнитивных функций как составной части психического здоровья приобретает сегодня все большую актуальность в связи с повышенными требованиями к эффективной интеллектуальной деятельности во всех сферах функционирования общества. Несмотря на данные о высокой наследуемости когнитивных способностей (30–80 %), мало известно о генетических механизмах, вовлеченных в их функционирование. Однако широко принят тот факт, что в основе когнитивных способностей лежит полигенный механизм, причем каждый генетический фактор имеет крайне небольшой размер эффекта. Согласно «гипотезе универсальных генов», генетические механизмы, ответственные за фенотипические вариации когнитивных функций мозга, так же могут принимать участие в формировании различных психопатологий (дислексия, СДВИГ, аутизм и т.д.).

В последние десятилетие генетический анализ когнитивных функций мозга, как и многих других сложных признаков, претерпел изменения. Доминирующие методы поиска ассоциаций и сцепления генов теперь заменяются методами полногеномных исследований (GWAS), целью которых является поиск небольших генетических эффектов, влияющих на индивидуальные различия в уровне когнитивных способностей. Тем не менее, эти методы имеют свои ограничения. Результаты GWAS исследований больших и масштабных выборок и оценки нескольких миллионов SNP показали, что каждый конкретный генетический маркер оказывает весьма скромный эффект, и все вместе они объясняют только небольшую часть наблюдаемой фенотипической изменчивости. Так, крупномасштабные генетические исследования позволили объяснить до 20% из 50% наследуемости интеллекта. Таким образом, остается пока нерешенным вопрос о скрытой наследуемости (около 30%). Причиной данной проблемы могут являться эпистатические взаимодействия, неполный охват генетических маркеров, вклад редких вариантов, а также влияние ген-средовых взаимодействий. Отдельно следует отметить значение эпигенетических модификаций, например метилирование или передача РНК между поколениями, способные обуславливать эффект родительского происхождения, который должен теряться в современных GWAS. Таким образом, для понимания молекулярно-генетической природы когнитивных функций мозга, как в норме, так и при различных психопатологиях, необходимо использовать более широкий междисциплинарный подход, включая несколько конвергентных источников информации для идентификации соответствующих клинически важных генов.

**Благодарности.** Публикация подготовлена за счет гранта Российского научного фонда (проект №17-78-30028).

## ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ МУЛЬТИОМНЫЙ ПОДХОД ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СЛОЖНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Назаренко М.С.<sup>1,2,3</sup>, Слепцов А.А.<sup>1</sup>, Марков А.В.<sup>1</sup>, Королева Ю.А.<sup>1</sup>, Зарубин А.А.<sup>1</sup>, Шарыш Д.В.<sup>3</sup>, Валиахметов Н.Р.<sup>1</sup>, Казанцев А.Н.<sup>2</sup>, Бурков Н.Н.<sup>2</sup>, Барбараш О.Л.<sup>2</sup>, Пузырев В.П.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, Россия, Томск, Набережная реки Ушайки, 10;

<sup>2</sup>НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Россия, Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6; <sup>3</sup>Сибирский государственный медицинский университет, Россия, Томск, Московский тракт, 2

[maria.nazarenko@medgenetics.ru](mailto:maria.nazarenko@medgenetics.ru)

В последнее десятилетие наблюдается сдвиг парадигмы в исследовании заболеваний человека от оценки отдельных генов-кандидатов к анализу вариабельности на уровне генома, эпигенома и транскриптома с помощью высокоразрешающих технологий и последующей биоинформационной обработкой полученного массива мультиомных данных. Использование данного подхода позволяет получить «непредвзятый» портрет молекулярных событий, происходящих в тканях и органах мишеней заболеваний у отдельных индивидов. Предполагается, что в результате будут выявлены механизмы заболеваний, а также оценена функциональная значимость ранее обнаруженной связи генетических вариантов с отдельными эндофенотипами или сложным фенотипом заболевания в целом.

В работе с помощью микрочиповых технологий выполнено профилирование числа копий участков ДНК (CNVs), метилирования ДНК и экспрессии генов клеток сосудов и крови мужчин с клинически выраженным атеросклерозом сонных и коронарных артерий и метаболическим синдромом. Для подтверждающего анализа CNVs использована количественная ПЦР в режиме реального времени, а изменение уровня метилирования отдельных генов-кандидатов верифицировано с помощью бисульфитного пиросеквенирования. У пациентов в клетках крови и сосудов выявлены преимущественно «доброкачественные» CNVs, которые располагались в области генов иммунновоспалительного ответа и метаболических путей. Впервые идентифицированное редкое увеличение числа копий участков ДНК в хромосомном регионе 10q24.31 (*ERLIN1*) имело соматическое происхождение в клетках крови отдельных пациентов [1]. Атеросклеротические бляшки по сравнению с интактными артериями характеризовались умеренным увеличением уровня метилирования ДНК. Наиболее выраженное гипометилирование ДНК в атеросклеротических бляшках по сравнению с интактными сосудами зарегистрировано в регионе 2q31.1 (*HOXD4/HOXD3/MIR10B*) [2]. При интегральном анализе CNVs и метилирования ДНК с экспрессией генов в атеросклеротических бляшках по сравнению с интактными артериями показано, что иммунновоспалительный ответ, изменение метаболизма липидов/липидных капель, окисление жирных кислот в митохондриях, Wnt-сигнальный путь и трансформация фенотипа клеток в клетках сосудов могут быть «драйверами» в отношении патологии. Возможно, что вариабельность CNVs и метилирования ДНК в умеренной дозо- и тканеспецифичной (соматической) манере может объяснить риск развития атеросклероза.

[1]. Nazarenko M.S., et al., Genomic structural variations for cardiovascular and metabolic comorbidity. // 2017, Sci Rep. V.7 P. 41268.

[2]. Nazarenko M.S., et al. A comparison of genome-wide DNA methylation patterns between different vascular tissues from patients with coronary heart disease. // 2015, PLoS One. V. 10. P. e0122601.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке грантов Российского Научного Фонда (№14-15-00305, №16-15-10150).

## NGS СЕКВЕНИРОВАНИЕ КАК МЕТОД ПОИСКА НОВЫХ МАРКЕРОВ ОЖИРЕНИЯ И САХАРНОГО ДИАБЕТА 2

Глотов А.С.<sup>1,2,3</sup>, Барбитов Ю.А.<sup>1,4</sup>, Глотов О.С.<sup>1,2,3</sup>, Серебрякова Е.А.<sup>1,2</sup>, Предеус А.В.<sup>4</sup>, Полев Д.Е.<sup>1</sup>, Шувалова А.Р.<sup>1</sup>, Насыхова Ю.А.<sup>1,2</sup>, Покровская М.С.<sup>5</sup>, Мешков А.Н.<sup>5</sup>, Сивакова О.Н.<sup>5</sup>, Драпкина О.М.<sup>5</sup>, Васильев Е.В.<sup>3</sup>, Уразов С.П.<sup>3</sup>, Сарана А.М.<sup>1,3</sup>, Щербак С.Г.<sup>1,3</sup>, Баранов В.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7-9, <sup>2</sup>ФГНБУ «НИИ АГиР им.Д.О.Отта», Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия д.3, <sup>3</sup>ГБ СПб ГБУЗ «Городская больница №40», Россия, Санкт-Петербург, Сестрорецк, Борисова 9, <sup>4</sup>Институт биоинформатики, Россия, Санкт-Петербург, Кантемировская 2А, <sup>5</sup>ФГБУ «ГНИЦПМ» Минздрава России, Россия, Москва, Петроверигский пер., 10, стр. 3.

[anglotov@mail.ru](mailto:anglotov@mail.ru)

Полногеномные ассоциативные исследования были настоящим прорывом в изучении наследственных факторов полигенных заболеваний. На сегодняшний день установлено более 70 генетических вариантов, ассоциированных с развитием ожирения и более 80 вариантов – с сахарным диабетом 2 (СД2). Однако, на наш взгляд, использование данного метода, как и других классических подходов для установления причин мультифакторных заболеваний (МФЗ) в «эру» полногеномного секвенирования явно недостаточно. Поэтому целью настоящего исследования стал поиск новых маркеров ожирения и СД2 с помощью методов экзомного секвенирования.

Биообразцы пациентов и контроля были собраны на базе ГБ №40 и «ГНИЦПМ». Секвенирование образцов ДНК (70 образцов пациентов и 20 контроля) проведено на приборах Иллюмина HiSeq 2500 и HiSeq 4000. Для приготовления библиотек использовали наборы Roche SeqCap EZ MedExome и Illumina TruSeq Exome. Анализ данных производился при помощи программных пакетов bwa, Picard, Genome Analysis ToolKit (GATK) и SnpEff/SnpSift. Для обработки результатов использовали тесты ассоциации бинарных признаков с отдельными вариантами, тесты ассоциации бинарных признаков с отдельными генами, а также тесты ассоциации количественных признаков с отдельными вариантами.

Среди известных GWAS вариантов тренд к ассоциации с СД2 демонстрировали маркеры rs60980157, rs2148982, rs9379084 в генах *GPSM1*, *PAGE5* и *RREB1*. Анализ ассоциаций с «редкими маркерами» выявил следующие маркеры ожирения: rs143262370 гена *MC5R*, rs328 гена *LPL*, rs33997857 гена *LPIN1*, rs587776842 гена *DRD4* и СД2: rs147101544 гена *KRTAP5*, rs57195580 гена *RTP1* и rs61751322 гена *KNTC1*. В рамках нагрузочного теста вариантов был выявлен один новый локус СД2 - ген *PRR4*. Варианты rs11705041 гена *KIAA0930*, rs4594362 гена *NOSIP* были ассоциированы с повышенным уровнем глюкозы, а варианты rs5005869 гена *ANKRD36C*, rs2684075 гена *FAM86B2*, rs200528112 гена *NBPF8.2* – с повышенным уровнем триглицеридов.

В рамках данной работы нами была продемонстрирована эффективность технологий полноэкзомного секвенирования для поиска новых маркеров многофакторных заболеваний. Установлены новые группы значимых локусов риска СД2 и ожирения. Однако найденные локусы риска следует подтвердить на больших выборках.

**Благодарности:** Исследование выполнено частично при поддержке гранта РНФ №14-50-00069 и частично компании ООО «Парсек». Работа выполнена на базе РЦ «Биобанк» Научного Парка СПбГУ.

## ФЕНОМЕН СОЧЕТАННЫХ БОЛЕЗНЕЙ: ОТ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕХАНИЗМОВ К ПОИСКУ ЛЕКАРСТВЕННЫХ МИШЕНЕЙ

Брагина Е.Ю.<sup>1</sup>, Фрейдин М.Б.<sup>1</sup>, Бабушкина Н.П.<sup>1</sup>, Жалсанова И.Ж.<sup>1</sup>, Гончарова И.А.<sup>1</sup>,  
Иванисенко В.А.<sup>2</sup>, Досенко В.Е.<sup>3</sup>, Hofestaedt R.<sup>4</sup>, Назаренко М.С.<sup>1</sup>, Пузырев В.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ медицинской генетики ТНИМЦ, Россия, Томск, Набережная реки Ушайки, 10;

<sup>2</sup>ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, пр.ак.Лаврентьева,10;

<sup>3</sup>Национальный медицинский университет им. А.А.Богомольца, Украина, Киев, бульвар Тараса Шевченко, 13/7;

<sup>4</sup>Bielefeld University, Bielefeld, Germany Universitätsstraße 25

[elena.bragina72@gmail.com](mailto:elena.bragina72@gmail.com)

Согласно эпидемиологическим данным у 20%-90% пациентов регистрируются клинические проявления одновременно нескольких заболеваний, связанных между собой единым патогенетическим механизмом – прямая коморбидность (синтропия). Однако существуют заболевания, которые редко встречаются одновременно у одного пациента – обратная коморбидность (дистропия). Исследования, направленные на идентификацию основных закономерностей функционирования и выявления ключевых молекулярных процессов, происходящих при формировании различных патологических фенотипов, могут представлять чрезвычайный интерес не только для понимания патогенеза болезней, но и для идентификации потенциальных молекулярных мишеней для лекарств и разработки таргетной терапии.

В работе реализован подход, интегрирующий данные биоинформатики и экспериментального исследования на примере пар заболеваний – бронхиальная астма и артериальная гипертензия (синтропия), а также бронхиальная астма и туберкулез (дистропия). В результате использования различных биоинформатических подходов, среди наиболее важных генов для экспериментального подтверждения коморбидных связей между астмой и гипертензией выбраны *TLR4*, *CAT*, *IL10*, *CST3*, *ICAM1*, *IRF6*, *NFKB1*, *PNP*, *SELL*, *SPP1*, *SMC2*, *SERPINA1*, *IL2RB*, *HSPA4*, *ANG/RNASE4*, *FOS*, *NT5C2*, *BHLHE40* [1]. Для исследования астмы и туберкулеза приоритет был отдан генам *IL2*, *IL8*, *IL10*, *IL12B*, *TNFA*, *IFNG*, *HLA-DQB1*, *HLA-DRB1*, *CCL2*, *IL1B*, *IL4*, *IL6*, *CXCL10*, *SPP1*, *VDR*, *SLC11A1*, *TNFRSF1B*, *CD4*, *CD79A* [2]. Для вышеперечисленных генов методом MALDI-TOF масс-спектрометрии и ПЦР в режиме реального времени изучены eQTL SNPs у пациентов с изолированными и коморбидными заболеваниями. В результате установлено, что наибольший вклад в коморбидность астмы и гипертензии могут вносить гены *TLR4*, *CAT* и *ANG/RNASE4*, свидетельствуя о важности воспаления, окислительного стресса и процессов неоваскуляризации для патогенеза обоих заболеваний. Механизмом, способствующим исключительно редкому сочетанию астмы и туберкулеза, может быть чрезмерная активация/подавление генов воспалительного ответа *IL10* и *TNFA*.

[1]. Sail O.V. et al., Novel candidate genes important for asthma and hypertension comorbidity revealed from associative gene network. // 2018, BMC Med Genomics., V.11(Supl 1), P.15.

[2]. Bragina E.Yu. et al., Insights into pathophysiology of dystropy through the analysis of gene networks: an example of bronchial asthma and tuberculosis. // 2014, Immunogenetics, V. 66(7-8), P. 457-465.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при поддержке гранта VolkswagenStiftung “*In silico* screening and experimental validation of new drug targets for the treatment of co-morbid multifactorial diseases” (#90335); проекта «Реконструкция, компьютерный анализ и моделирование структурно-функциональной организации биомедицински значимых генных сетей» Комплексной программы фундаментальных исследований СО РАН; гранта РФФИ «Генетические факторы коморбидности многофакторных болезней человека» №15-04-05852.

## FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF HUMAN REGULATORY VARIANTS BASED ON TRANSCRIPTOMIC DATA AND THEIR IMPLICATION IN PHENOTYPIC OUTCOME

Korbolina E.E.<sup>1,2</sup>, Bryzgalov L.O.<sup>1,3</sup>, Merkulova T.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ICGC SB RAS, Russia, 630090, Novosibirsk, pr. Lavrentyeva, 10; <sup>2</sup>NSU, Russia, 630090, Novosibirsk, Pirogova st., 1; <sup>3</sup>SC Vector-Best, Russia, 630117, Novosibirsk-117, \b 492  
[lungry@bionet.nsc.ru](mailto:lungry@bionet.nsc.ru)

The prior computational study, presented in 2018 [1], identified 1476 human regulatory SNPs (rSNPs) that were selected based on the assessment of their potential to affect gene expression according both to positional and functional criteria. Here we employed the differential gene expression analysis in order to explore the landscape of phenotypic manifestation of these regulatory variants.

Included were the SRA datasets on 327 RNA sequencing experiments in postmortem human brains on neuropsychiatric patients. Since most rSNPs of the total 1476 did not fall within the transcribed genomic regions, we determined the rSNP alleles in brain samples using specifically selected coding markers. To that end, we discovered the SNPs within the transcribed regions of known human genes from 3500 individual genomes originating from the 1000 Genomes Project. The relative distances between rSNP and each coding SNP was measured by a ratio of the number of people with different haplotypes to the total number of people found to have this coding SNP from 1000 Genomes data. The coding SNP was involved as rSNP marker, if the ratio was less than 0.1. Further analysis was conducted separately for each studied rSNP position. The total of 327 brain samples was divided into ‘homo-‘ and ‘heterozygous’ working groups focusing on the certain rSNP allelic combination. Next, we used DeSeq 2.0 to identify the genes that were differentially expressed ( $p_{adj} < 0.1$ ) between the ‘homo-‘ and ‘heterozygous’ sample groups. The resulted gene lists for 147 rSNPs were analyzed based on their enrichment scores for associated GO\do terms and KEGG pathways using R *clusterProfiler* tool ( $p_{adj} < 0.05$ ). As a result, we have unearthed the variants of considerable interest from the starting point of genetic predisposition for a number of socially significant diseases and human traits. This analysis may show evidence for a novel effective algorithm in analyzing of regulatory variants genome-wide and building prognosis of their effects on the individual phenotype. [1]. Korbolina E.E. et al., Novel approach to functional SNPs discovery from genome-wide data reveals promising variants for colon cancer risk. // 2018, Hum Mutat., V. 39(6), P. 851-859. doi: 10.1002/humu.23425.

Acknowledgments: This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR): grant #18-29-09041.

## ОСОБЕННОСТИ ГЕНОФОНДА СМЕШАННОГО НАСЕЛЕНИЯ МЕГАПОЛИСА, ЗНАЧИМЫЕ ДЛЯ ЗАДАЧ ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИИ

Курбатова О.Л., Удина И.Г.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, 119991, Москва, ул. Губкина, д. 3*  
*okurbat@list.ru*

Проанализированы важнейшие отличительные особенности городов-мегаполисов, создающие сложности при формировании баз данных (референсных групп) для целей ДНК-идентификации.

В мегаполисах повышены риски возникновения инцидентов, преступлений, террористических актов, требующих мероприятий по ДНК-идентификации преступников и жертв. В РФ насчитывается 16 городов-миллионников, суммарное население которых составляет почти 35 млн. чел. (32% от городского населения и 24% от всего населения страны). Особую сложность для решения задач криминалистики представляют огромная численность населения мегаполиса, его большая плотность, высокая мобильность и как следствие – анонимность, затрудняющая раскрытие преступлений. Огромный приток мигрантов приводит к интенсивной замене генофонда коренного населения, обуславливает значительные межпоколенные различия по генетико-демографической структуре (этнический состав молодого поколения наиболее разнообразен). Аутбредный тип брачной структуры (широкое распространение межнациональных браков) обуславливает смешанный характер населения мегаполиса в этническом, антропологическом и генетическом отношении – лишь малая часть (3-5%) представителей наиболее многочисленной в городе национальности не имеет в своих родословных предков других национальностей и мигрантов. Дополнительная сложность – наличие подразделенности популяции мегаполиса – неоднородности расселения этнических групп по городской территории (тенденция к образованию «этнических кварталов» или анклавов) и положительной брачной ассортативности по генетически-значимым признакам (преимущественное заключение браков со «своими» – представителями той же этнотерриториальной группы, земляками). Нестабильность процессов естественного воспроизводства населения, наличие межэтнических различий в темпах естественного прироста приводит к отсутствию устойчивого воспроизводства генофонда в поколениях.

Некоторые из перечисленных особенностей носят общий характер, другие имеют пространственную и временную специфику. Очевидно, что смешанное население мегаполиса в историческом плане представляет новую модель популяционной структуры, для которой необходимо разрабатывать специальные базы данных для целей ДНК-идентификации.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания ИОГен РАН 0112-2016-0002 «Исследование генофондов и популяционно-генетическая структура животных, растений и человека» и в рамках Мероприятия 10 научно-технической программы Союзного государства «ДНК-идентификация».

## ПАЛЕОГЕНЕТИКА НАСЕЛЕНИЯ СИБИРИ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ РЕГИОНОВ ЕВРАЗИИ

Пилипенко А.С.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Российская Федерация, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева 10, 630090;

<sup>2</sup>Институт Археологии и этнографии СО РАН, Российская Федерация, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева 17

<sup>3</sup>Новосибирский государственный университет, Российская Федерация, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

[alexpil@bionet.nsc.ru](mailto:alexpil@bionet.nsc.ru)

Популяционно-генетические и этнокультурные процессы, протекавшие в различных районах Сибири и сопредельных регионах, играли ключевую роль в становлении современной картины генетической variability населения Евразии. Развитие методов палеогенетики позволило исследовать генофонд разновременных групп древнего населения Сибири, существенно дополнив возможности этногеномики. Развитие методической азы позволило перейти от анализа географически разрозненных малочисленных образцов древней ДНК к анализу серийного материала, репрезентативного по отношению к древним популяциям исследуемых регионов. Одним из наиболее перспективных подходов в данной области является анализ диахронных материалов от популяций, сменявших друг друга на одной и той же территории на протяжении длительного времени. Такой подход позволяет выполнить анализ динамики генетического состава населения во времени и оценить корреляцию данных палеогенетики и других направлений, включая археологию и физическую палеоантропологию, реконструировав, таким образом, комплексную картину процессов формирования генетической специфики населения региона. В докладе рассмотрены данные о структуре генофонда древнего населения нескольких районов Сибири, включая как данные палеогенетического исследования диахронных выборок из популяций юга Сибири, полученные под руководством автора, так и имеющиеся литературные данные. Особое внимание уделено роли автохтонных и пришлых (в составе миграционных потоков различных эпохи и направлений) генетических компонентов в формировании генетической variability коренного населения различных районов Сибири. Палеогенетические результаты рассмотрены в контексте данных археологии и физической антропологии о рассматриваемых группах древнего населения региона.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-78-20193.

## ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ЧЕЛОВЕКА И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Голубенко М.В.<sup>1,2</sup>, Зарубин А.А.<sup>1</sup>, Салахов Р.Р.<sup>1</sup>, Марков А.В.<sup>1</sup>, Бабушкина Н.П.<sup>1</sup>, Слепцов А.А.<sup>1</sup>, Тарасенко Н.В.<sup>1</sup>, Назаренко М.С.<sup>1,2</sup>, Пузырев В.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Россия, г. Томск; 634050, Набережная реки Ушайки, 10; <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Россия, г. Кемерово; 650002, Сосновый бульвар, 6.  
[maria.golubenko@medgenetics.ru](mailto:maria.golubenko@medgenetics.ru)

Митохондриальный геном человека характеризуется не-менделевским наследованием и высокой изменчивостью на разных уровнях организации (наследственный полиморфизм, эпигенетические модификации, CNV, соматические мутации) как в норме, так и при различных заболеваниях. В частности, митохондриальная дисфункция, ишемия и связанный с ними окислительный стресс играют важную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний.

В результате проведенных нами исследований ассоциаций полиморфизма мтДНК с заболеваниями сердечно-сосудистого континуума и его эндотипами было показано, что некоторые гаплогруппы на родословном древе человека (например, H1 и HV0) повышают риск развития инфаркта миокарда (в том числе повторного). Гаплогруппа J, наоборот, имеет протективный эффект в отношении проявлений сердечно-сосудистых заболеваний. Таким образом, можно говорить о том, что в патогенетике заболеваний сердечно-сосудистой системы присутствует фенотипический эффект полиморфизма мтДНК, который проявляется в риске развития осложнений в пределах синтропии сердечно-сосудистого континуума. Исследование гетероплазмии мтДНК с помощью NGS в крови и атеросклеротических бляшках пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, а также у здоровых лиц выявило значительное число гетероплазмичных позиций с низкой частотой мутантных аллелей (существенно ниже порогового значения 70%), но не обнаружило ассоциации уровня гетероплазмии с атеросклерозом. Изучение метилирования регуляторного региона (D-петли) мтДНК показало, что этот участок характеризуется очень низким уровнем метилирования цитозинов как в CpG-сайтах, так и вне CpG-сайтов (около 1% у пациентов с атеросклерозом и около 2,5%) у здоровых индивидов). По-видимому, метилирование не играет значительной роли в регуляции экспрессии митохондриального генома. Результаты исследования числа копий мтДНК в клетке у здоровых лиц и пациентов с атеросклерозом указывают на то, что более высокое число копий мтДНК является протективным фактором в отношении сердечно-сосудистых заболеваний. Можно предположить, что выявляемые не-наследственные изменения митохондриального генома (эпигенетические модификации, изменение числа копий мтДНК в клетке, соматические мутации), возможно, являются следствием воздействия окислительного стресса; в то же время, они могут влиять на функцию митохондрий: как положительно, оказывая компенсаторный эффект, так и отрицательно, вызывая дальнейшее нарушение энергетического баланса.

## Симпозиум V: Генетические основы селекции / Symposium V: The Genetic Basis for Breeding

### ПРОБЛЕМЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В АГРАРНОМ ПРОИЗВОДСТВЕ

Донник И.М.<sup>1</sup>, Кривоногова А.С.<sup>2</sup>, Исаева А.Г.<sup>1</sup>, Моисеева К.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Уральский ГАУ, Россия, Екатеринбург, <sup>2</sup>ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, Россия, Екатеринбург

[ktqrjp7@yandex.ru](mailto:ktqrjp7@yandex.ru)

Исследовали состав оппортунистической микрофлоры и ее антибиотикочувствительность на животноводческих и птицеводческих предприятиях Уральского региона. Отбирали пробы воздуха, кормов и премиксов, подстилки, воды для поения, делали смывы с наружных покровов, слизистых оболочек животных и птицы разных технологических групп, смывы с оборудования, ограждения, поверхностей, клеток, инвентаря в различных точках технологических помещений. Всего было обследовано 24 предприятия.

Установили, что на молочно-товарных фермах, свинокомплексах, птицефабриках преобладающими микроорганизмами являлись энтерококки *E. faecium* и *E. faecalis*, их выделяли в 18-100% проб, *S.aureus* - в 12-46% проб, *P. aeruginosa* - в 15-38% проб. Также в значительных количествах обнаруживали *P.vulgaris*, *P.mirabilis*, плесневые грибы, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *E. coli*, *Candida albicans* – их обнаруживали в 3 -12% проб. *B. subtilis*, *Enterobacter* spp. и другие микроорганизмы составляли в среднем менее 3% от всех выявленных.

На большинстве объектов преобладали штаммы микроорганизмов со сниженной чувствительностью к АБП. В среднем доля таких штаммов составляла 55%-58%.

Средний уровень резистентности штаммов *P. aeruginosa* к карбапенемам и фторхинолонам составил: на молочно-товарных фермах - 12% и 6%, на свиноводческих предприятиях 9% и 13%, на птицефабриках - 6% и 18% соответственно.

Наибольшее количество мультирезистентных штаммов (нет чувствительности к АБП 3 и более классов) выявляли на молочно-товарных фермах в родильных отделениях, на свинокомплексах – у опоросившихся свиноматок и новорожденных поросят, на птицефабриках – в смывах с клоаки кур.

На птицефабриках более 40% выделенных штаммов имели устойчивость к минимум одному из препаратов, при этом мультирезистентные штаммы составляли почти 3-6% от всех выделенных микроорганизмов. Наибольшее количество устойчивых штаммов обнаружили у золотистого стафилококка – 65% от общего их количества.

Наибольшее количество эпизодов резистентности выявляли к макролидам, полусинтетическим пенициллинам, фторхинолонам и к тетрациклинам.

Ванкомицин-резистентные энтерококки (VRE) выявляли в 4-11% от всех выделенных штаммов *Ent. Faecium* и *Ent. faecalis* в зависимости от предприятия. Синегнойная палочка, резистентная к фторхинолонам, была обнаружена на 22 предприятиях из 24. В среднем, доля таких штаммов от всех выделенных *P.aeruginosa* составляла 7-12% в зависимости от предприятия. «Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 18-16-00040)».

## ОПЫТ АГРОЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАСПОРТИЗАЦИИ СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В НАЦИОНАЛЬНОМ ЦЕНТРЕ ЗЕРНА ИМЕНИ П.П.ЛУКЪЯНЕНКО

Кудряшов И.Н., Пономарев Д.А., Лысак Н.И., Беспалова Л.А.

ФГБНУ «НЦЗ им.П.П.Лукьяненко», Россия, г.Краснодар, 350012, п/о-12, Центральная усадьба КНИИСХ

[ipasport@rambler.ru](mailto:ipasport@rambler.ru)

В 90-е годы, в результате недостаточного финансирования, наблюдалось сокращение тематики научных исследований, которое затронуло и наше учреждение. Тем не менее в конце 1994 года в отделе селекции пшеницы в большом объеме были заложены опыты по агроэкологической оценке сортов. Вызвано это было увеличением возделываемых в производстве сортов, которые из-за слабой изученности биологических свойств неэффективно использовались. Отделом была изыскана возможность выделения 36 га земли для размещения восьмипольного севооборота, где пшеница высевалась по 4-м предшественникам. Основной целью новых для нашего отдела исследований, была агроэкологическая оценка сортов с целью их дальнейшего макро-, мезо- и микрорайонирования, как одного из факторов адаптивной интенсификации растениеводства, изложенной А.А.Жученко [1].

При планировании полевых опытов, были выбраны факторы, оказывавшие наибольшее влияние на важнейшие хозяйственно-ценные признаки: предшественники, сроки сева, азотные подкормки, фунгициды, нормы посева и др. В настоящее время ежегодно в многофакторных полевых опытах высевается 24 сорта озимой пшеницы на 38 агровариантах. Всего же за истекшие 24 года изучалось 132 сорта озимой мягкой пшеницы в 21486 сортоопытах на 85944 делянках.

Проводимые нами опыты позволили не только повысить эффективность возделывания сортов пшеницы, но и дают ценную информацию для селекции. Большой набор сортов и агроусловий, позволяет достоверно оценивать генотип-средовые взаимодействия, рассчитывать наряду с фенотипическими, экологические и генотипические взаимосвязи признаков. Ежегодное включение в опыты сорта шедевра Безостая 1, районированного в далеком 1959 году, показывает прогресс селекции практически за 60-летний период.

Актуальность и своевременность этой работы подтверждается увеличением количества возделываемых в производстве сортов. Если в 1995 году (закладка первых опытов по паспортизации сортов) в Реестре РФ по Краснодарскому краю было включено 13 сортов пшеницы мягкой озимой селекции нашего института, то в настоящее время их количество возросло до 80. Адресное, точное использование сортов озимой пшеницы без дополнительных затрат, может повысить ее урожайность на 10 и более центнеров с 1 га. Если в 1995 году урожайность озимой пшеницы в Краснодарском крае составила 32,0 ц/га, то в 2018 она выросла вдвое. Одним из важных факторов этого роста явилось точное использование сортов.

### Литература:

1. Жученко А.А., Ресурсный потенциал производства зерна / А.А.Жученко. – М.: ООО «Издательство Агрорус», 2004.- 1109 с.

## ОПУШЕНИЕ ЛИСТА ПШЕНИЦЫ: ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ, ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

Афонников Д.А.<sup>1,2</sup>, Дорошков А.В.<sup>1</sup>, Генаев М.А.<sup>1</sup>, Симонов А.В.<sup>1</sup>, Осипова С.В.<sup>3,4</sup>,  
Пермяков А.В.<sup>1,3</sup>, Пермякова М.Д.<sup>1</sup>, Ефимов В.М.<sup>2</sup>, Пшеничникова Т.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, 630090, г. Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, 10.

<sup>2</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 1.

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, д. 132.

<sup>4</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет», Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, д. 1

[ada@bionet.nsc.ru](mailto:ada@bionet.nsc.ru)

Опушение листа у пшеницы играет важную биологическую роль в адаптации к окружающей среде. Однако оценить количественные характеристики опушения и, следовательно, более точно исследовать его роль, всегда было затруднительно. Нами разработан высокопроизводительный подход к фенотипированию опушения листьев пшеницы на основе анализа изображений [1]. Этот метод оценивает количество трихом на изображении, их распределение по длине и среднюю длину. Используя эту технику, мы оценили фенотипический эффект трех известных генов опушения мягкой пшеницы [2]. Наши результаты показали, что эти гены различаются по своему влиянию на рост, инициацию и формирования паттерна трихом.

Проанализировано разнообразие опушения листьев у родственников и предков гексаплоидных пшениц (47 представителей ди-, тетра- и гексаплоидных видов родов *Triticum* и *Aegilops*), установлена изменчивость его фенотипического проявления в процессе эволюции и одомашнивания. Описаны основные морфологические типы опушения. Диплоидные виды показали наибольшую изменчивость характеристик опушения, в то время как культивируемые твердые пшеницы практически не имели опушения. У генотипов мягкой пшеницы отмечена высокая корреляция между числом трихом и их длиной.

Проведен эксперимент для четырех генотипов мягкой пшеницы с различными комбинациями аллелей генов, контролирующих опушение листьев в условиях контролируемого водного дефицита. Показано, что локусы пшеницы, ассоциированные с опушением листьев, могут быть вовлечены в физиологическую реакцию растений на засуху [3].

[1]. Genaev M.A. et al. Extraction of quantitative characteristics describing wheat leaf pubescence with a novel image-processing technique. // 2012, *Planta* 236:1943–1954. DOI: 10.1007/s00425-012-1751-6

[2]. Doroshkov A.V. et al. Interactions between leaf pubescence genes in bread wheat as assessed by high throughput phenotyping. // 2016, *Euphytica*, 207, 491-500. DOI: 10.1007/s10681-015-1520-2

[3]. Pshenichnikova, T.A. et al. Quantitative characteristics of pubescence in wheat (*Triticum aestivum* L.) are associated with photosynthetic parameters under conditions of normal and limited water supply // 2018, *Planta*. DOI: 10.1007/s00425-018-3049-9

**Благодарности:** Данная работа была выполнена частично при поддержке РФФИ 17-29-08028.

## МЕЖЛОКУСНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНОВ НИЗКОСТЕБЕЛЬНОСТИ ПШЕНИЦЫ И РЖИ В ГЕНОМЕ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ

Дивашук М.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева,

Россия, Москва, 127550 Тимирязевская ул., 49

<sup>2</sup>ФГБНУ ВНИИСБ, Россия, Москва, 127550 Тимирязевская ул., 42

[divashuk@gmail.com](mailto:divashuk@gmail.com)

Тритикале – важная сельскохозяйственная культура, которая получает всё большее распространение по всему миру благодаря усилиям селекционеров и генетиков. Несмотря на значительный прогресс, у тритикале до сих пор имеется ряд выраженных недостатков, один из которых – полегание. Интрогрессия генов низкостебельности пшеничного и ржаного происхождения позволяет эту проблему решить. В российских сортах яровой тритикале из 24 известных генов пшеницы одним из распространённых является *Rht-B1b* [1, 2]. Наиболее значимый среди генов ржи *Ddw1* был перенесён только в озимую тритикале, в яровой он не встречается [2]. Нами была поставлена цель изучить эффект и взаимодействие генов низкостебельности пшеницы *Rht-B1b* и ржи *Ddw1* на высоту и элементы структуры урожайности в трёх популяциях F<sub>2</sub> в условиях вегетационного опыта и F<sub>3</sub> в условиях полевого опыта.

Для исследований мы получили три сопряжённые популяции в результате проведения следующих схем скрещиваний: Хонгор (*Rht-B1b Ddw1*)×Дублет(*Rht-B1b ddw1*); Мудрец (*Rht-B1a Ddw1*)×Дублет(*Rht-B1b ddw1*); Валентин 90 (*Rht-B1a Ddw1*)×Дублет(*Rht-B1b ddw1*). Растения родительских форм, гибридов F<sub>1</sub> и популяции F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> генотипировались с помощью ПЦР-маркеров [3].

Как в вегетационном, так и в полевом опытах нами показано, что наличие *Ddw1* приводит к снижению высоты в среднем на треть, а наличие эффекта *Rht-B1b* маскировалось более сильным влиянием *Ddw1*. При этом *Ddw1* проявил негативный эффект на элементы структуры урожайности: наличие *Ddw1* снижало массу 1000 зёрен и массу зерна с главного колоса. Присутствие в геноме пшеничного гена *Rht-B1b* увеличивало число зёрен в главном колосе и увеличивало массу зерна в главном колосе.

Таким образом, *Ddw1* довольно сильно снижает высоту растений, так что одновременное присутствие *Rht-B1b* не оказывает дополнительного эффекта. При этом *Ddw1* отрицательно влияет на продуктивность растений. В свою очередь, *Rht-B1b* обладает выраженным плейотропным положительным эффектом на элементы структуры урожайности. Это свойство *Rht-B1b* позволит компенсировать негативное влияние гена *Ddw1* при селекционной работе по созданию низкостебельных форм яровой тритикале.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РНФ № 17-76-20023.

### Библиография

- [1]. Divashuk M.G., Fesenko I.A., Karlov G.I., Bepalova L.A., Vasilyev A.V., Puzyrnaya O.Y. Reduced height genes and their importance in winter wheat cultivars grown in southern Russia. // 2013, Euphytica, 190 (1), P. 137-144.
- [2]. Korshunova A. D., Divashuk M. G., Soloviev A. A., Karlov G. I. Analysis of Wheat and Rye Semidwarfing Gene Distribution in Spring Hexaploid Triticale (*Triticosecale* Wittm.) Cultivars and Breeding Lines. // 2015, Russian Journal of Genetics, 51(3), P. 272–277.
- [3]. Коршунова А.Д., Дивашук М.Г., Даебль И.А.М.А., Карлов Г.И., Соловьёв А.А. Валидация ДНК-маркеров генов короткостебельности у тритикале (*Triticosecale* Wittm. ) // 2014, Известия ТСХА, 3, с. 21-31.

## ОСОБЕННОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОАДАПТАЦИИ ПРИ СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ УСИЛЕНИЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ КЛИМАТА

Грабовец А.И.

чл.-кор. РАН, М.А. Фоменко, д.с.х.н.

Россия, Федеральный Ростовский аграрный научный центр

[grabovets\\_ai@mail.ru](mailto:grabovets_ai@mail.ru)

За последние 20 лет заметно изменился климат в степной зоне Дона, и что крайне характерно при этом существенно усилилась его изменчивость. В пиковые периоды роста колосовых злаков продолжительность дней без осадков в мае-июне стала возрастать до 60 дней в сочетании с высокими температурами и часто интенсивными ветрами. Вот почему особенно важное значение при селекции озимой пшеницы в этой ситуации начинает приобретать проблема создания высокопродуктивных сортов, которые бы использовали меньшее количество влаги на синтез единицы сухого вещества, чем прежние, и имели более выраженную жаро- и засухоустойчивость, естественно в комплексе с другими основными признаками.

Под эту проблему была сконструирована определенная генетическая изменчивость, доступная отбору. Основные элементы её создания: гибридизация, существенное различие специально подобранных родительских пар по генам, определяющим селективируемые признаки, максимальная гетерогенность популяций (при рекомбинации новые схемы кроссинговера, затрагивающие ранее молчащие зоны хромосом и др.), длительное по годам формообразование. В этом процессе основным генетическим механизмом является коадаптация: взаимное приспособление взаимодействующих аллелей по новым схемам канализованности, обусловленное их рекомбинацией. При длительном расщеплении это продолжается несколько лет в определенном направлении под давлением выше приведенных негативов среды. Не меньшее значение для особенностей канализованности аллелей в гетерогенной популяции имеет и направляющая роль селекции в этом процессе.

Механизмами воздействия при этом являются маркеры отбора по отдельным признакам, при помощи которых управляется формообразовательный процесс. Они были выявлены путем многолетних исследований. При оптимальном минеральном питании (это незаменимое условие создания новых генотипов) оттапливались от максимально рационального использования осенне-зимних запасов продуктивной влаги в метровом слое (150 мм). С целью экономии влаги понизили высоту соломины со 110 см до 70-90; повысили в два раза продуктивное кушение (затенили посев), одновременно стремились не нарушать стабильность существовавшего ранее веса надземной массы на единице площади (определяющего критерий роста продуктивности сорта). Выявили, что существуют генотипы с уменьшенным количеством потребляемой влаги для синтеза сухого вещества (это затрагивало особенности транспирации), что масса зерна с растения (с единицы площади) в одинаковых со другими кроссоверами условиях – наиболее объективный показатель жаро-засухоустойчивости генотипа, важно было постепенно увеличивать уборочный индекс. Однако, здесь существует предел его максимальной выраженности. При его превышении урожайность рекомбинанта снижалась из-за уменьшения ёмкости депонирования метаболитов при фотосинтезе.

С учетом этих особенностей созданы кроссоверы, адекватные вызовам климата, на базе которых выделены сорт сорта нового поколения Губернатор Дона, Донэра, Донская лира, Боярыня, Вестница, Золушка, Донмира, Октава 15 и др.

## ДЕФИЦИТНЫЙ ПО АБК МУТАНТ ЯЧМЕНЯ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВОДНОГО ОБМЕНА РАСТЕНИЙ И ВЫЯВЛЕНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ

Веселов Д.С.<sup>1</sup>, Кудоярова Г.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, Россия, Уфа, пр. Октября, 69

[veselov@anrb.ru](mailto:veselov@anrb.ru)

Дефицитный по гормону абсцизовой кислоте (АБК) мутант ячменя AZ34 отличается пониженной активностью фермента, катализирующего окисление альдегида АБК, по сравнению с растениями исходного генотипа (Step toe). Мы провели сравнительное изучение AZ34 и Step toe для выявления роли АБК в регуляции водного обмена и засухоустойчивости растений. Хорошо известно, что накопление АБК в листьях способствует закрытию устьиц, что может происходить достаточно быстро и обеспечивает экономию воды. АБК также способна влиять на гидравлическую проводимость корней. Однако этому эффекту уделялось недостаточно внимания. Нами показано, что накопление АБК в корнях способствует увеличению притока воды из корней за счет возрастанию гидравлической проводимости. Гидравлическая проводимости важна в условиях атмосферной засухи, когда ускорение притока воды из корней должно компенсировать возросшие потери воды за счет ее испарения. Этот механизм поддерживает устьица в открытом состоянии, обеспечивает газообмен, фотосинтез и высокую урожайность растений в условиях умеренной атмосферной засухи, характерной для многих регионов России. Нами выявлено накопление АБК в корнях растений Step toe на фоне возрастания дефицита воды в воздухе и транспирации при повышении температуры, что сопровождалось повышением гидравлической проводимости корней [1]. У растений AZ34 не было зарегистрировано накопления АБК, а гидравлическая проводимость оставалась на исходном уровне. Это приводило к падению водного потенциала листа и торможению роста, что подтверждает важную роль АБК в нормализации водного обмена в условиях умеренной атмосферной засухи. Иммуногистохимический метод с использованием специфических антител к аквапоринам ячменя показал, что нагревание воздуха вызывает у растений Step toe повышение числа локализованных в плазмолемме водных каналов, кодируемых геном *HvPIP2;2*. У растений AZ34 этого эффекта не было обнаружено, что указывает на зависимость влияния АБК на гидравлическую проводимость с изменением экспрессии генов, кодирующих аквапорины. В целом полученные нами результаты свидетельствуют о перспективности использования оценки уровня АБК и активности аквапоринов в растениях как физиологических признаков в селекции за засухоустойчивость.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 17-04-01477.

[1]. Veselov D.S., Sharipova G.V., Veselov S.Yu. et al., Rapid changes in root *hvip2;2* aquaporins abundance...// 2018, *Funct. Plant Biol.*, V.45, P.143–149.

## СЕЛЕКЦИЯ ГИБРИДОВ КУКУРУЗЫ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП СПЕЛОСТИ С БЫСТРОЙ ОТДАЧЕЙ ВЛАГИ ЗЕРНОМ ПРИ СОЗРЕВАНИИ

Супрунов А.И., Парпуренко Н.В., Терещенко А.А.

ФГБНУ «НЦЗ им.П.П.Лукияненко», Россия, г.Краснодар, 350012 Центральная усадьба КНИИСХ

*suprunov-kniisx@mail.ru*

В последние годы существенным образом увеличились площади посева и расширились регионы возделывания раннеспелых и среднеранних гибридов кукурузы селекции НЦЗ им.П.П.Лукияненко. В 2018 году данные гибриды высевались в Российской Федерации и странах СНГ на площади более 700 тыс.га.

Возделывание в условиях Северо-Кавказского региона гибридов с быстрой отдачей влаги зерном при созревании позволяет рано освобождать поля под посев озимых культур без досушки зерна. В Центральном, Центрально-Черноземном и Нижневолжском регионах где были районированы данные гибриды, товаропроизводителям удается получать как высококачественный силос, хороший корнаж, так и зерно кукурузы с пониженной уборочной влажностью.[1]

Поэтому селекция гибридов с быстрой отдачей влаги зерном при созревании является актуальной задачей. В качестве источника быстрой влагоотдачи зерном при созревании, при создании нового исходного материала мы использовали линию донор быстрой влагоотдачей из коллекции центра – КР602.[2]

С участием новых линий 2017 году районирован раннеспелый гибрид кукурузы по 3,5,7 регионам России - Краснодарский 205 АМВ и в 2018 году, среднеранний гибрид Краснодарский 295 АМВ по 6 и 8 регионам[3]. В 2017 году Государственное сортоиспытание с участием новых линий был передан раннеспелый гибрид кукурузы Краснодарский 202МВ. В условиях Северо-Кавказского и Центрально-Черноземного регионе данные гибриды формировали урожай зерна 85,8-106,6 ц с 1 га, при этом их уборочная влажность была ниже чем у стандарта на 2,7-2,9%.

1) Супрунов, А.И. Селекция раннеспелых и среднеранних гибридов кукурузы с пониженной уборочной влажностью зерна при созревании / А.И.Супрунов, А.А.Терещенко, А.Ю.Слащев, Н.В.Парпуренко // Политематический сетевой журнал Кубанского Аграрного Государственного университета – г.Краснодар, 2016, № 09(123)-с.113-126.

2) Супрунов, А.И. Селекция среднеранних гибридов кукурузы с быстрой отдачей влаги зерном при созревании в условиях Центральной зоны Краснодарского края / А.И.Супрунов, А.А.Терещенко // Журнал «Достижения науки и техники АПК» г.Москва, 2016, № 1-с.30-32.

3) Супрунов, А.И. Селекция среднеранних гибридов кукурузы для Северо-Кавказского и Центрально-Черноземного регионов России при возделывании их на зерно / А.И.Супрунов, А.А.Терещенко, Н.В.Парпуренко, О.А.Кольцова // Журнал «Рисоводство» г.Краснодар, 2017, № 4(37) –с.17-21.

## СЕКВЕНИРОВАНИЕ ГЕНОМА ПШЕНИЦЫ - НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ

Салина Е.А.

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева 10  
[salina@bionet.nsc.ru](mailto:salina@bionet.nsc.ru)

В результате расшифровки геномов сельскохозяйственных культур формируется два важных ресурса, которые используются в дальнейших прикладных исследованиях: базы данных по молекулярным маркерам и по первичной структуре генов. В 2018 году завершено секвенирование генома пшеницы Международным консорциумом, в том числе и с нашим участием, в результате которого построен референсный геном пшеницы сорта Чайниз Спринг, охватывающей 94% реального генома протяжённостью около 15 млрд.п.н.[1]. Референсный геном представляет собой набор из 21 псевдомолекулы, соответствующей 21 хромосоме гаплоидного генома мягкой пшеницы (BAD). В общей сложности было идентифицировано 107,891 генов с относительно равномерным распределением по субгеномам B, A и D (35,643, 35,345 и 34,212).

Еще в процессе выполнения первых этапов секвенирования было разработано более 90000 SNP (single nucleotide polymorphism) маркеров, и созданы чипы для анализа образцов пшеницы. Ранее такие подходы для генотипирования пшеницы отсутствовали, сейчас SNP-чипы активно используются нами и другими российскими учеными для отработки технологии геномной селекции применительно к селекционному процессу, а также для идентификации новых генов, участвующих в формировании хозяйственно-ценных признаков. Помимо SNP маркеров проводилась разработка SSR маркеров, ген-специфичных маркеров, преобразование SNP для KASP (Kompetitive allele specific PCR) технологий (KASP –маркеры), которые активно привлекались к маркер-ориентированной селекции.

Важным является тот факт, что с появлением референсной последовательности генома пшеницы резко увеличивается число работ, связанных с изучением структуры генов, определяющих хозяйственно-ценные признаки, что ранее было возможно только для ограниченного числа генов. В том числе мы привлекаем референсную последовательность хромосомы 5B для определения первичной структуры генов, формирующих устойчивость к бурой ржавчине у серии созданных тестерных линий мягкой пшеницы.

И наконец, будет сделан существенный вклад в работы по геномному редактированию, так как эффективность таких работ напрямую связана с наличием расшифрованного генома.

[1]. International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC), Science 361, 661 (2018)

## ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭПИГЕНЕТИКИ РАСТЕНИЙ

Эльконин Л.А.<sup>1</sup>, Геращенко Г.А.<sup>2</sup>, Кожемякин В.В.<sup>1</sup>, Панин В.М.<sup>1</sup>, Рожнова Н.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока», Россия, г. Саратов, ул. Тулайкова, 7; <sup>2</sup>ИБГ УФИЦ РАН, Россия, г. Уфа, просп. Октября, 71

[elkonin@gmail.com](mailto:elkonin@gmail.com)

Эпигенотип растения – зеркало взаимодействия внешней среды и генотипа. Анализ экспрессии генов-восстановителей (*Rf*) в разных типах ЦМС сорго наглядно иллюстрирует этот факт. Изучение восстановления фертильности в некоторых типах стерильных цитоплазм сорго (А<sub>3</sub>, 9Е, М35-1А), показало, что важным фактором, определяющим фертильность гибридов F<sub>1</sub> с ЦМС-линиями на этих типах цитоплазм, является уровень влагообеспеченности растений на этапе микроспорогенеза или цветения. «Индукцированная» высоким уровнем влагообеспеченности фертильность проявляется в самоопыленном потомстве гибридов, выращенном в «неиндуктивных» условиях, однако в тест-кроссах фертильных линий, полученных в результате самоопыления гибридов F<sub>1</sub>, с ЦМС-линиями, экспрессия «индуцированной» фертильности вновь зависит от условий влагообеспеченности. Эти данные свидетельствуют, что функциональный статус генов *Rf* устанавливается под действием условий внешней среды в F<sub>1</sub> и наследуется в поколениях. Для выявления возможных причин утраты функциональной активности генов *Rf* в геноме гибридов F<sub>1</sub> на цитоплазме 9Е был проведен MSAP-анализ ДНК стерильных гибридов и фертильных линий, полученных на их основе в условиях высокой влажности. Праймеры к РНК-транспозону *Tos17* выявили разный характер метилирования данного транспозона у стерильных гибридов и фертильных линий. Установлено также, что цитоплазма 9Е действует как фактор, изменяющий характер метилирования нуклеотидных последовательностей ядерных генов, в частности, транспозонов, что может приводить к увеличению их мобильности. В ЦМС А<sub>3</sub> главным фактором, регулирующим экспрессию генов *Rf*, является уровень дефицита влажности воздуха, при этом в условиях воздушной засухи гибриды F<sub>1</sub> оказываются мужски-стерильными. В то же время, фертильные линии, отобранные при высокой влагообеспеченности, обладают способностью к восстановлению фертильности гибридов F<sub>1</sub>, тогда как фертильные линии, отобранные в условиях засухи, утрачивают эту способность. Установлено трансгенерационное влияние условий выращивания линии-донора генов *Rf* на характер расщепления в потомстве гибридов F<sub>1</sub> («эффект дедушки»). Эти различия, возможно, связаны с эпигенетическими изменениями в генах *Rf*, индуцируемыми условиями выращивания. По-видимому, цитоплазма, являясь буфером между внешней средой и ядерным геномом, «перерабатывает» сигналы от внешней среды и, тем самым, оказывает существенное влияние на экспрессию ядерных генов. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант 16-04-01131.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРИ СОЗДАНИИ НОВЫХ ГЕНОТИПОВ *T. AESTIVUM* НА ОСНОВЕ ГИБРИДИЗАЦИИ С ВИДАМИ ЯЧМЕНЯ *H. VULGARE* И *H. MARINUM* SSP. *GUSSONEANUM*

Трубачеева Н.В., Першина Л.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук", Россия, Новосибирск, 630090, пр-т академика Лаврентьева 10  
[natas@bionet.nsc.ru](mailto:natas@bionet.nsc.ru)

В нашей работе проводится гибридизация культурного ячменя *H. vulgare* L. ( $2n=14$ ) и дикого *H. marinum* ssp. *gussoneanum* Hudson ( $2n=28$ ) с *T. aestivum* L. для создания новых генотипов мягкой пшеницы с изменчивостью ядерно-цитоплазматических взаимодействий и интрогрессией чужеродных генов. В работе с такими генотипами необходима быстрая и качественная идентификация чужеродного генетического материала и детектирование целевых генов в ядерном геноме интрогрессивных форм, а также анализ изменчивости митохондриальной (мт) и хлоропластной (хп) ДНК в процессе ядерно-цитоплазматической коадаптации. С этой целью используются GISH-анализ и методы молекулярно-генетического анализа, основанные на ПЦР. Так, с помощью SSR-анализа установлен сортовой состав рекомбинантных аллоплазматических линий (*H. vulgare*)-*T. aestivum* и определены сорта пшеницы – восстановители фертильности и закрепители стерильности на цитоплазме культурного ячменя. Установлено, что процесс формирования алло-линий мягкой пшеницы на основе ячменно-пшеничных гибридов сопровождается изменчивостью не только ядерных, но органельных – (мт) и (хп) геномов. С помощью ПЦР-анализа изучены районы мтДНК *cob*, *nad3-orf156*, *18S/5S* и хпДНК *ndhH*, *rpoB*, *psaA*, *infA*, *ycf5*. Показано, что восстановление фертильности алло-линий ассоциировано с уменьшением копий мт- и хп-ДНК ячменного типа и увеличением копий мт- и хп-ДНК пшеничного типа. Показано, что рекомбинантные алло-линии (*H. vulgare*)-*T. aestivum* с закрепленной фертильностью могут успешно использоваться в качестве исходного материала в селекции при введении в их геном целевых генов устойчивости к грибным патогенам. Интерес к дикому ячменю *H. marinum* обусловлен тем, что есть возможность перенести от этого вида в мягкую пшеницу гены, определяющие устойчивость к абиотическим факторам (засолению, затоплению), и повышенное содержание белка в зерне. Полученные в работе алло-линии (*H. marinum*)-*T. aestivum* и неполные ячменно-пшеничные амфиплоиды ( $2n=54, 55$ ) используются в качестве доноров хромосом дикого ячменя для их интрогрессии в геном сортов мягкой пшеницы при получении новых исходных генотипов для селекции. С целью идентификации индивидуальных хромосом *H. marinum* проанализировано 74 EST-маркера ячменя *H. vulgare* и определены маркеры, подходящие для изучения аллоплазматических линий и эуплазматических линий мягкой пшеницы, несущих индивидуальные хромосомы ячменя *H. marinum*.

Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта № 0324-2016-0001 и гранта РФФИ (проект 17-04-01738).

## СОВРЕМЕННЫЕ НЕБИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО УЛУЧШЕНИЯ СОИ

Зеленцов С.В., Мошненко Е.В., Саенко Г.М., Бубнова Л.А., Зеленцов В.С.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур им. В.С. Пустовойта», Россия, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17.

[soya@vniimk.ru](mailto:soya@vniimk.ru)

Для повышения результативности селекции сои и создания сортов с новыми свойствами в мире всё активнее применяют биотехнологические и молекулярно-биологические методы. Но из-за высокой стоимости использование этих методов возможно, преимущественно, при грантовой поддержке, мало доступной селекционерам-практикам.

Современные биотехнологические методы эффективны, но пригодны для работы, в основном, с качественными признаками. При этом урожайность сорта остаётся важнейшим количественным признаком, перед которым пока пасует вся мощь современной биотехнологии.

В результате, стоящая перед практической селекцией задача дальнейшего повышения продуктивности новых сортов, преимущественно, обеспечивается классическими, но не всегда достаточно эффективными методами, либо разработкой и внедрением собственных, небιοтехнологических методов селекционно-генетического улучшения сои.

Для повышения результативности селекции сои нами было разработано и внедрено несколько собственных методов создания исходного материала. Среди них методы, которые основаны:

- на концепции «закреплённого гетерозиса» В.А. Струнникова с использованием источников комплексов компенсационных генов (ККГ), модифицированной нами для селекции сои [1].
- на полиплоидизации, в результате которой при частичном возврате на диплоидный уровень в потомствах полиплоидов появляются особи с дупликациями и делециями локусов, кодирующих различные признаки, сохраняющиеся в потомстве [2].
- на отборе особей с увеличенной долей коллоидных фракций в цитозоле, снижающих температурную точку их коагуляции и седиментации, для повышения холодо- и заморозкоустойчивости.
- на блокировке микотрофного типа питания патогенов за счёт увеличения осмотического давления клеточного сока в тканях растения, превышающего осмотический уровень возбудителя болезни, и обеспечивающего повышенную устойчивость к патогенным грибам [3].

[1]. Зеленцов С.В., Кочегура А.В., Мошненко Е.В., Генетическое улучшение сои с использованием комплекса компенсирующих генов // 2004, Итоги исследований по сое за годы реформирования и направления НИР на 2005-2010 гг., Краснодар, С.67-73.

[2]. Зеленцов С.В. Использование полиплоидной рекомбинации генома в увеличении полиморфизма у сои. // 2002, Доклады РАСХН, №3, С.3-5.

[3]. Саенко Г.М., Зеленцов С.В., Использование особенностей гриба *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. в селекции сои на толерантность к пепельной гнили (Сообщение II) // 2013, Масличные Культуры, Вып.2 (155-156), С.32-42.

## ПОЛИПЛОИДИЯ И ВИДООБРАЗОВАНИЕ У КОСТОЧКОВЫХ ПЛОДОВЫХ РАСТЕНИЙ РОДА *PRUNUS* L.

Еремин Г.В.

Крымская опытно-селекционная станция – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова»

353384, Россий, Краснодарский край, г. Крымск, ул. Вавилова, 12

[kross67@mail.ru](mailto:kross67@mail.ru)

Изучение генофонда видов рода *Prunus* L. на Крымской ОСС позволило установить, что полиплоидия играла важную роль в эволюции его подродов *Prunophora* и *Cerasus*, к которым принадлежат виды сливы, абрикоса, вишни и черешни. Выявлено, что многие виды рода *Prunus* в естественных популяциях имеют полиплоидные расы, и отдельные индивиды образуют нередуцированные гаметы, что приводит к появлению в семенном потомстве полиплоидов. Однако естественные и индуцированные аутополиплоиды по признакам отличаются от исходных форм лишь в количественном их выражении, но не найдено новых показателей, позволяющих эти полиплоиды выделить в самостоятельные виды.

Установлено, что большинство дикорастущих полиплоидных видов косточковых растений являются аллополиплоидами. Среди них: терн – *P. spinosa* L. (*P. cerasifera* Ehrh. × *P. microcarpa* C.A. Mey), вишня степная – *P. fruticosa* Pall. (*P. canescens* Bois × *P. mahaleb* L.), вишня Маака – *P. maackii* (*P. canescens* × *P. maximowiczii* Rupr.), микровишня простертая – *P. prostrata* Labill. (*P. incana* Stev. × *P. microcarpa* C.A. Mey.).

Некоторые уточнения стало возможным внести в гипотезу происхождения сливы домашней – *P. domestica* L. (2n=48) Крена и Лоуренса, как амфидиплоида от гибридизации алычи (2n=16) с терном (2n=32). Гибриды между дикорастущей алычой и терном, выделенные в природе и искусственно полученные В.А. Рыбиным, по морфологии промежуточны между родительскими видами и сильно отличаются от форм сливы домашней. Ближе к последней по своим признакам гибриды терна с сортами алычи, в происхождении которых участвовала слива китайская – *P. salicina* Lindll., а также гибриды терна со сливой русской – *P. rossica* Erem. – гибридогенным видом, полученным от скрещивания алычи и сливы китайской.

Перспективным видится селекция сливы и абрикоса на тетраплоидном уровне, позволяющем совместить в геномах тетраплоидных гибридов признаки гексаплоидов (*P. domestica*), тетраплоидов (*P. spinosa*) и его сесквидиплоидных гибридов с диплоидными видами (абрикос, слива китайская, микровишня простертая и др.).

Использование индуцированных тетраплоидов, полученных от диплоидных видов, оказалось эффективным в селекции подвоев косточковых культур. Так гибридизация между индуцированными амфидиплоидами и терном (*P. spinosa*, 4x × *P. cerasifera*, 4x) × (*P. cerasifera* × *P. persica* Stokes), 4x позволила получить гибрид с условным названием АТАП, успешно проходящий испытание в качестве клонового подвоя для сливы, абрикоса, персика и миндаля.

**Благодарности:** Работа выполнена на коллекции генетических ресурсов растений ВИР (VIR Collections of Plant Genetic Resources) в рамках государственного задания ВИР (бюджетный проект № 0662-2019-0004).

## GAMETE-FUSION GENES EDITING IN MAIZE LINE

Chumakov M.I., Moiseeva Ye.M., Gusev Yu.S., Gutorova O.V., Volokhina I.V.

*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13 Prospekt Entuziastov, Saratov 410049, Russia;*

*chumakov\_m@ibppm.ru*

The molecular-genetic aspects of double fertilization in angiosperms plants, discovered by S. Navashin over a hundred years ago (1896), still remains poorly understood. In the case of gynogenesis, haploid plant developed the embryo from unfertilized egg, since one of the sperm cells does not merge with the egg cell, forming a parthenogenetic haploid embryo. The genetic regulation of gamete fusion in agronomically important plants, including maize, is poorly studied also. Nevertheless, knowledge of the mechanism of gamete membrane interaction and fusion in agriculturally valuable plants may be of practical use for haploid-inducing line production. In the framework of this work we tested the hypothesis [1] of the emergence of gynogenesis (parthenogenesis) in maize, in violation of the gamete membrane fusion. We discovered the *Zm\_gcs1* and *Zm\_gex2* maize genes coding gamete membrane associated proteins in 2017 [2]. This work aims to study the function and role of *Zm\_gcs1* maize gene in gynogenesis, and to study the possibility of creating new haploid-inducing lines for modern breeding. PCR products from 656 bp region of *ZM\_gcs1* maize gene were observed in DNA samples isolated from pollen grains, ovary, roots and leaves of the haploid-inducing (SPEM) and control (GPL-1) maize lines. Sequencing of the PCR products from the *ZM\_gcs1/hap2* gene of SPEM and GPL-1 maize lines (1467 bp, GenBank accession number: BankIt2052266 Seq1 MG029204) were identical and also were identical to the reference (B73, GenBank) maize line sequence. We prepare the CRISPR/CAS9 constructions with gRNA to the *ZM\_gcs1* maize gene in pChimera-pCAS9-TPC and pKir1.1 vectors for obtaining the CRISPR/CAS9 mutations in BM (brown marker) maize line by using agrobacterial transformation (in planta and in vitro) methods. The maize BM line with CRISPR/CAS9 mutation was tested by PCR and gene sequencing methods, and evaluated for the cytological and phenotypical manifestations. The principal approaches for preparing of maize haploid technologies will be discussed.

This work was supported in parts by the RFBR №№15-04-08413 and 18-29-14048 grants.

### REFERENCES

- [1] Chumakov M. I., Matroclinic haploidy and gamete interaction in maize // 2018, Rus. J. Genetics, V. 54(10), P. 1137–1141.
- [2] Volokhina I.V., Moiseeva Ye.M., Gusev Yu.S., Gutorova O.V., Chumakov M.I., Analyzing of the gamete-fusion genes in the haplo-inducing ZMS-P maize line // 2017, Rus. J. Develop. Biol. V. 48(2), P. 117–121.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МАРКЕРНОЙ СЕЛЕКЦИИ РИСА

Костылев П.И., Краснова Е.В., Аксенов А.В.

ФГБНУ «АНЦ «Донской», Россия, Зерноград, Научный городок, 3

*p-kostylev@mail.ru*

В России с площади 200 тыс. га ежегодно собирают более 1 млн т зерна риса. В Ростовской области в АНЦ «Донской» созданы сорта риса: Боярин, Командор, Южанин, Кубояр, Акустик. Важным фактором повышения урожайности риса является создание новых, высокопродуктивных, устойчивых к стресс-факторам сортов.

В настоящее время генетика риса в мире хорошо изучена, найдены и локализованы гены, детерминирующие важнейшие признаки продуктивности, качества продукции и устойчивости. Международное сотрудничество позволило интродуцировать доноры генов устойчивости к пирикулярриозу (*Pi*), засолению почвы (*Saltol*), длительному затоплению водой (*Sub1A*). Эти гены локализованы в конкретных хромосомах, к ним подобраны ближайшие ДНК-маркеры, что дает возможность с помощью ПЦР-анализа выявлять их наличие в генотипах. Использование ДНК-маркеров позволяет ускорить оценку и проводить отбор без фенотипической оценки, независимо от внешних условий. В нашей лаборатории проводится многолетняя работа по переносу генов устойчивости в генотипы отечественных сортов риса, адаптированных к местным условиям и формирующим высокую урожайность. Доноры генов интереса позднеспелые, с легко осыпающимся зерном. Тем не менее, удалось получить гибридный материал, приближающийся по морфотипу к сортам реципиентам.

С участием образцов, несущих устойчивость к пирикулярриозу, которая контролируется генами *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-40*, *Pi-b*, *Pi-ta* и др. получены гибридные формы, гомозиготные по генам *Pi*. В результате были созданы устойчивые к пирикулярриозу сорта риса Магнат (*Pi-1*, *Pi-2*), Пируэт (*Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*), Пентаген (*Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta*).

При селекции на солеустойчивость анализировали гибриды от скрещивания азиатских образцов с российским сортом на наличие маркеров гена *Saltol*. В результате были получены гибриды с генами солеустойчивости: IR-52713-2B-8-2B-1-2 x Новатор, IR-74099-3R-3-3 x Новатор, NSIC Rc 106 x Новатор, из которых отобраны лучшие линии.

Ген *Sub1* способствует толерантности к погружению. Его можно использовать для создания сортов, устойчивых к большому слою воды. Из гибридов от скрещивания азиатских доноров: BR-11, CR-1009, TDK-1, Inbara-3 с раннеспелым краснодарским сортом Новатор с помощью маркерной селекции выделены гомозиготные линии, несущие этот ген и адаптированные к условиям северного рисоводства.

Т.о., использование методов и достижений современной генетики позволило перевести селекционную работу на более высокий уровень и повысить эффективность создания новых сортов риса.

## ПОЛИМОРФИЗМ ЛОКУСОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК У ОБРАЗЦОВ КАРТОФЕЛЯ, КОНТРАСТНЫХ ПО ПРИЗНАКУ МУЖСКОЙ ФЕРТИЛЬНОСТИ/СТЕРИЛЬНОСТИ И ОБЛАДАЮЩИХ РАЗНЫМИ ТИПАМИ ЦИТОПЛАЗМ

Антонова О.Ю.<sup>1</sup>, Алпатьева Н.В.<sup>1</sup>, К.В. Егорова<sup>1,2</sup>, Н.С. Клименко<sup>1</sup>, Ю.И. Карабицына<sup>1</sup>,  
Гавриленко Т.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)», Россия, Санкт-Петербург,

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург,  
[olgaant326@mail.ru](mailto:olgaant326@mail.ru)

В работе изучен полиморфизм локусов мтДНК у сортов и клонов картофеля, имеющих, согласно классификации Hosaka, Sanetomo [1], стерильные (T/beta, W/gamma, D=W/alpha) и фертильный (P/beta) типы цитоплазм. Параллельно материал был фенотипирован по признаку фертильности/стерильности пыльцы.

Методом секвенирования были проанализированы участки генов, которые, согласно литературным данным, могут быть связаны с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС), а именно: гены АТФ-синтаз (*atp6*, *atp9*), интроны генов *nad2*, *nad7*, *cox2*, *ScmFc*, *rps3* и межгенный спейсер *nad1/atp6*. Данные гены идентифицированы нами в неаннотированной последовательности мтДНК *Solanum phurea* JF772172.1, для их амплификации разработано 11 пар праймеров. ПЦР-продукты были секвенированы в ЦКП «Геномные технологии и клеточная биология» (ФГБНУ ВНИИСХМ). Независимо от типа цитоплазмы образцов, участки генов *nad2*, *nad7*, *cox2*, *rps3* и *atp6* были идентичны друг другу и референсной последовательности JF772172.1. В межгенном спейсере *nad1/atp6* обнаружен один полиморфный сайт (замена G→T), позволяющий отличать образцы с beta-типом мт-ДНК. Последовательность мт-локуса *atp9* у изученных генотипов была представлена несколькими вариантами, отличавшимися друг от друга 1-17 заменами. У селекционного клона NV20 (gamma-тип мтДНК) выявлена делеция 1329 п.о. в последовательности интрона гена *ScmFc*. Обнаруженные отличия не оказывали влияния на признак фертильности пыльцы.

Дополнительно был проанализирован локус *rps14/cob*, в котором ранее методом ПДРФ анализа [1] были выявлены фрагменты, специфичные для стерильного W/gamma типа цитоплазмы. С помощью разработанных нами CAPS-маркеров *rumD/TaqI* было показано отсутствие полиморфизма в данном локусе у 202 образцов с alpha- и beta- типами мтДНК, которые имели митотип *rumD1*. В то же время, 26 сортов с тетрадной мужской стерильностью (цитоплазма W/gamma), разделились на 14 митотипов. При этом у образцов дикого вида *S. stoloniferum* - предполагаемого донора цитоплазмы W/gamma – было выявлено еще 3 варианта данного локуса - митотипы *rumD2*- *rumD4*, не встречавшиеся у сортов. Методом секвенирования по Сенгеру было показано отсутствие в анализируемом локусе крупных перестроек – различия между митотипами сводились к моонуклеотидным заменам и/или инделям, которые в ряде случаев затрагивали сайты рестрикции *TaqI*. Можно высказать предположение, что различия последовательностей у сортов с мтДНК типа gamma связаны с их происхождением от разных полиморфных образцов *S. stoloniferum*.

[1]. Hosaka K, Sanetomo R. Development of a rapid identification method for potato cytoplasm and its use for evaluating Japanese collections. // 2012, Theor Appl Genet, V. 125, P. 1237-1251.

[2]. Lössl A., Adler N., Horn R., Frei U., Wenzel G. Chondriome type characterization of potato: M $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  and novel plastid-mitochondrial configurations. // 1999, Theor Appl Genet, V.99, P.1-10.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РНФ №16-16-04125

## ПОЛИМОРФИЗМ ОРТОЛОГОВ ГЕНА *ANTHOCYANIN 1* У ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР СЕМЕЙСТВА *SOLANACEAE*

Бабак О.Г., Некрашевич Н.А., Никитинская Т.В., Яцевич К.К., Кильчевский А.В.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, ул. Академическая 27.

[O.Babak@igc.by](mailto:O.Babak@igc.by)

Антоцианы являются высокоценными антиоксидантами растений, которые не только придают определенную окраску плодам и семенам, но и определяют устойчивость к биотическим и абиотическим стрессовым факторам. Данная работа посвящена изучению полиморфизма аллелей, влияющих на накопление антоцианов у овощных пасленовых культур (томат, перец, баклажан).

Известно, что ген томата *Antocyanin 1 (Ant1)* кодирует *Myb* транскрипционный фактор, регулирующий накопление антоцианов в плодах. Нами успешно апробирован CAPS маркер *Ant1-NcoI* для выявления аллеля *Ant1<sup>C</sup>* [1], формирующего Aft фенотип с характерной окраской вегетативной массы и темно-синей окраской плодов.

Поиск генов-ортологов к аллелю *Ant1* (EF433416) в базе данных GeneBank выявил следующие наиболее близкие по нуклеотидному составу последовательности *Myb113-like* транскрипционных факторов: у *S. annuum* - mRNA XM\_016689227, mRNA NM\_001324618 и у *S. melongena* - mRNA KT259043. На основании данных базы Solgenomics были подобраны праймеры, полностью перекрывающие экзоны указанных выше генов. С их помощью методом ПЦР на геномной ДНК у образцов перца и баклажана с контрастной антоциановой окраской плодов были получены и секвенированы ампликоны данных генов.

Путем сравнительного анализа полученных последовательностей *S. annuum* выявлен следующий полиморфизм: 4SNP и делеция в одно основание в третьем экзоне *Myb113-like* фактора (XM\_016689227) (у сортов Белоснежка и L160-10), а также 2 SNP в четвертом экзоне *myb113-like* фактора (NM\_001324618). Однонуклеотидная делеция приводит к сдвигу рамки считывания и синтезу усеченного белка. К данной мутации нами разработан и успешно апробирован CAPS маркер *Myb 113-AccI* для выявления форм с белой окраской плодов без накопления антоцианов.

В результате сравнения полученных сиквенсов гена *myb1* у *S. melongena* выявлен различный полиморфизм: делеция в 6 п.о. в конце экзона 1, приводящая к выпадению 2 аминокислот в белке (у сорта Зелененький), или делеция в 26 п.о. на конце интрона 1 - начале экзона 2 и 11 SNP (у сортов Снежный и Пеликан). Скорее всего, делеция в 26 п.о. приводит к нарушениям при созревании мРНК и невозможности синтеза функционального белка. Основываясь на выявленном полиморфизме разработаны и апробированы SCAR маркер *MybMel* и CAPS маркер *Mybmel-Pst1* для идентификации данных мутаций у форм баклажана без накопления антоцианов в плодах.

### Ссылки:

1. Sapir M. et al. Molecular Aspects of Anthocyanin fruit Tomato in Relation to high pigment-1 // 2008, J. Hered., V.99 (3), P. 292-303.

## ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ НЕХВАТОК ОТДЕЛЬНЫХ ХРОМОСОМ У ТЕТРАПЛОИДНОГО ХЛОПЧАТНИКА

Санамьян М.Ф.

*Национальный университет Узбекистана, Узбекистан, г. Ташкент, Вузгородок, ул. Университетская 4*

*[sanam\\_marina@rambler.ru](mailto:sanam_marina@rambler.ru)*

Исследования, проведенные в США, позволили получить моносомные линии для 15 из 26 негомологичных хромосом тетраплоидного хлопчатника *G. hirsutum* L. из межсортовых и межвидовых гибридов, непосредственно от облучения или в потомстве линий и гибридов с хромосомными абберациями. Несмотря на многочисленные усилия, покрытие генома хлопчатника нехватками отдельных хромосом остается неполным, поскольку по 4 негомологичным хромосомам (13, 19, 21, 24) отсутствуют какие-либо нехватки хромосом, а по 4 другим хромосомам (5, 8, 14, 15) присутствуют лишь нехватками отдельных плеч. Исследования выявили неравную частоту обнаружения моносом, поскольку большая часть индуцированных моносомиков была представлена нехватками лишь трех хромосом (2, 4 и 6). Отсутствие обнаружения новых моносом объяснялось нежизнеспособностью моносомиков, редкой воспроизводимостью моносомного состояния, нормальностью или сходством фенотипов с ранее полученными моносомиками.

В Национальном университете Узбекистана проводятся работы по получению линий с нехватками хромосом или их плеч у хлопчатника *G. hirsutum* L. непосредственно от облучения семян тепловыми нейтронами и опыления облученной пылью, а также в потомствах десинаптических форм в единой генотипической среде высоко инбредной линии Л-458. В результате получено 97 первичных моносомиков хлопчатника и большое число форм с нехватками отдельных плеч. Унифицированная идентификация унивалентных хромосом у моносомиков проводилась путем изучения гибридов, полученных от скрещиваний с транслокационными линиями с пронумерованными хромосомами, полученными от проф. Д. Стелли (США), а также с использованием SSR-маркеров. Среди 29 идентифицированных линий, обнаружено 4 моносомные линии по хромосоме **2**, 17 линий по хромосоме **4**, 5 линий по хромосоме **6**, по одной линии по хромосоме **7** A<sub>1</sub>-субгенома и хромосоме **18** D<sub>1</sub>-субгенома, а также одна телоцентрическая хромосома **11** A<sub>1</sub>-субгенома. Таким образом, несмотря на различия в генотипической среде и методах воздействия на хромосомы хлопчатника, в обеих цитогенетических коллекциях наблюдаются схожие тенденции по преимущественному индуцированию моносом по **2**, **4** и **6** хромосомам, а также единичному выявлению других моносом генома, что отрицательно сказывается на развитии цитогенетических исследований хлопчатника.

## НАСЛЕДОВАНИЕ МОНОГЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ПАРШЕ У ЯБЛОНИ

Савельева Н.Н., Лыжин А.С., Акимов М.Ю., Юшков А.Н.

ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина», Россия, Мичуринск, ул. Мичурина, 30

[misha\\_mich@mail.ru](mailto:misha_mich@mail.ru)

Проведено изучение гибридного фонда яблони насчитывающего около 6,5 тыс. семян от 26 комбинаций скрещиваний с 2008 года. Работа по оценке селекционного фонда продолжалась до 2018 года, так как в различные периоды онтогенеза устойчивость растений к парше неодинакова. Анализ полученного материала показывает, что некоторые генотипы очень хорошо передают потомству устойчивость к заболеванию паршой. К ним относятся сорта Летнее иммунное, Успенское, Флагман, Былина, Кандиль орловский, Имант, Академик Казаков, Белорусское сладкое. Все они являются производными яблони обильноцветущей (*Malus floribunda* 821), при этом моногенная устойчивость контролируется геном *Rvi6*. В семьях, где использовались названные сорта, было отмечено наибольшее количество устойчивых семян от 45 до 56%. Проведенный сравнительный анализ селекционных семей позволил выделить перспективные в иммунологическом отношении комбинации: Летнее иммунное х Гала, Былина х Московское ожерелье, Московское ожерелье х Успенское, Кандиль орловский х Лобо, Готика х Академик Казаков, Готика х Иммант, Готика х Белорусское сладкое. Расщепление генотипов по признаку устойчивости к парше соответствует теоретически ожидаемому 1:1, что подтверждается статистически. Полученное значение  $\chi^2$  (0,076-2,847) меньше критического (3,84) при уровне значимости 0,05. При использовании в скрещиваниях сорта колонновидной яблони Валюта в качестве донора моногенной устойчивости к парше (ген *Rvi6*), получено около 50% устойчивых генотипов, причем среди них выщеплялось до 51% колонновидных семян. Этими данными подтверждено независимое наследование признаков моногенной устойчивости к парше (ген *Rvi6*) и колонновидности (ген *Co*), что отмечается и другими исследователями. Проведенная оценка гибридного фонда на поражаемость паршой и колонновидность показала возможность получения форм с комплексом ценных хозяйственно-биологических признаков.

## ПЛЕЙОТРОПНЫЙ ЭФФЕКТ МУТАЦИЙ ЗАПАСНЫХ ЛИПИДОВ СЕМЯН ПОДСОЛНЕЧНИКА

Демури́н Я.Н., Бори́сенко О.М., Пери́ягина Т.М., Бо́чкарев Н.И., Ру́банова О.А.  
ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, г. Краснодар, 350038, ул. Филатова, д. 17  
[yakdemurin@yandex.ru](mailto:yakdemurin@yandex.ru)

У подсолнечника известны четыре селекционно ценных гена, контролирующие химический состав семян и значительно влияющие на качество масла. Доминантная мутация *Ol* блокирует десатурацию олеиновой кислоты в линолеовую в созревающих семенах, приводя к признаку высокоолеиновости масла. Рецессивная мутация *p* блокирует элонгацию пальмитиновой кислоты в стеариновую, давая высокопальмитиновый фенотип. Рецессивные мутации *tph1* и *tph2* изменяют состав токоферолов, формируя бета- и гамма-токоферольный фенотип, соответственно. При этом двойная гомозигота характеризуется накоплением дельта-формы. Существенного влияния мутаций высокоолеиновости и высокопальмитиновости на лабораторную всхожесть в интервале температур 10-25 °С, а также на всхожесть в условиях теплицы и на полевую всхожесть семян у созданных изогенных линий не установлено. Прорастание семян при различных температурах показало незначительные, но статистически достоверные флуктуации длины проростка в зависимости от генотипа при главном положительном влиянии температуры. Высокопальмитиновая линия характеризовалась по отношению к дикому типу более длинным проростком, но с меньшим количеством боковых корешков. Дальнейшее развитие растений до стадии первой пары настоящих листьев в условиях теплицы показало наличие отрицательного влияния мутации высокопальмитиновости на высоту растений, линейные размеры семядолей и листьев, а также надземную биомассу. Плейотропный эффект мутаций высокопальмитиновости и высокоолеиновости на морфологические признаки наблюдался в течение трёхлетнего исследования серии изогенных линий. Мутация *p* приводила к уменьшению высоты растений, числа листьев и длины вегетационного периода. Мутация *Ol* достоверно увеличила высоту растений. Изучение варьирования высоты растений в F<sub>2</sub> и содержания пальмитиновой кислоты в семенах F<sub>3</sub> позволило установить факт ассоциативного наследования этих признаков при скрещивании линий ВК850(*p*)×ВК508. Средняя высота гомозиготных высокопальмитиновых растений в F<sub>2</sub> была достоверно ниже высоты остальных растений. Созданный межлинейный гибрид Окси, гомозиготный по трем мутациям *Ol*, *tph1* и *tph2*, показал существенное снижение витальных признаков завязываемости семян при аллогамии, автофертильности при инбридинге и пчелопосещаемости цветущих корзинок.

## ПРЕДСЕЛЕКЦИОННОЕ ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ ВИР: РОЛЬ В СОВРЕМЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ

Митрофанова О.П., Хакимова А.Г., Пюккенен В.П., Лысенко Н.С., Дементьев А.В.  
Федеральный Исследовательский Центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Россия, Санкт-Петербург, Большая Морская 42 и 44.  
[o.mitrofanova@vir.nw.ru](mailto:o.mitrofanova@vir.nw.ru)

Успехи в селекции пшеницы – одной из самых важных продовольственных культур в мире, зависят от наличия исходного материала, необходимого для улучшения ее характеристик и свойств. Основным поставщиком исходного материала для отечественной селекции служит коллекция генетических ресурсов пшеницы ВИР, насчитывающая около 40 тысяч образцов, представляющих 26 видов рода *Triticum* L. Основные усилия по работе с коллекцией направлены на пополнение представленного в ней ботанического и генетического разнообразия, оценку образцов на адаптивность к различным эколого-географическим условиям выращивания, сохранение жизнеспособности и подлинности образцов, создание электронного паспорта коллекции. Однако по мере расширения и усложнения задач селекции существенно возросла роль предселекционного изучения коллекции (pre-breeding): пополнился не только список признаков, по которым необходимо проводить оценку, но изменились требования к полноте изученности и генетическому разнообразию коллекционного материала.

В настоящее время для расширения генетической базы селекционных программ и повышения эффективности использования коллекции пшеницы ВИР в ее составе формируют специальные целевые (иначе признаковые, или стержневые) субколлекции, в которых максимально собирают известное и привлекают новое фенотипическое и генетическое разнообразие по отдельным и комплексам наиболее важных для селекции признаков. Путем скрещивания современных отечественных сортов с образцами, содержащими чужеродный генетический материал, создаются новые перспективные линии. С использованием ДНК-маркеров у образцов целевых субколлекций проверяют наличие известных и выявляют новые аллели генов различных признаков. В проведении такого рода исследований принимают участие также сотрудники других научно-исследовательских и образовательных учреждений России.

В докладе результаты исследований по формированию целевых коллекций будут рассмотрены на примере изучения озимой и факультативной мягкой пшеницы по признакам: тип и скорость развития растения, зимостойкость, устойчивость к вредоносным болезням, хорошая скрещиваемость мягкой пшеницы с чужеродными видами, элементы продуктивности колоса.

Образцы целевых субколлекций вместе с описанием методик выявления аллелей генов с помощью молекулярных маркеров будут передаваться в различные селекционные и образовательные учреждения России для обогащения рабочих коллекций этих учреждений и ускорения внедрения в селекционные программы маркер контролируемого отбора.

## ДОМСТИКАЦИЯ, БИОРАЗНООБРАЗИЕ И АРХИТЕКТОНИКА ПШЕНИЦ

Гончаров Н.П.

Институт цитологии и генетики СО РАН, РФ, Новосибирск. Пр. ак. Лаврентьева 10;  
Новосибирский государственный аграрный университет, РФ, Новосибирск. ул. Добролюбова  
160

[gonch@bionet.nsc.ru](mailto:gonch@bionet.nsc.ru)

Пшеницы начали культивировать на пороге эпохи шлифованного камня – неолита. Поиск механизмов возникновения морфологических изменений в ходе доместикации – одна из старейших проблем эволюционной биологии [1]. Привлечение новейших молекулярно-биологических и сравнительно-генетических методов для ее решения дает ключ к пониманию ю механизмов, и позволяет реконструировать возможные сценарии вовлечения в селекции признаков, отличающих дикорастущие виды пшениц от возделываемых. В многочисленных исследованиях, проведенных в последнее время, показано, что явные физиологические и морфологические отличия, имевшие важное значение для древнего земледельца, возникли вследствие изменений в локусах, регулирующих программы развития растений [2]. Выявление механизмов появления у возделываемых растений определенных признаков в ходе доместикации позволило связать направление отбора с характером выраженности и генетического контроля таких признаков. В настоящее время у пшениц выделен ряд генов, контролирующих хозяйственно важные признаки, которые могут быть использованы для изучения эволюционных процессов происходящих при доместикации. К таким генам относятся гены *Vrn*, детерминирующие скорость развития и яровость-озимость, и ген *Q*, контролирующей пленчатость-голозерность и ломкоколосость. Накопленные к настоящему времени данные о нуклеотидных последовательностях геномов различных видов пшениц позволяют не только с большой степенью достоверности установить филогенетические взаимоотношения в роде *Triticum* L., но и провести временные оценки дивергенции видов и выявить вектора доместикации. Их филогения, построенная на основе молекулярно-генетических данных, соотнесена с археологическими данными. В докладе обсуждаются полученные и накопленные на настоящий момент времени результаты в свете ранее выполненных работ.

**Благодарности:** Работа была поддержана грантами РФФ 16-16-10021 и 19-76-20028.

[1]. Гончаров Н.П., Глушков С.А., Шумный В.К., Доместикация злаков Старого Света: поиск новых подходов для решения старой проблемы. // 2007, Журн. общ. биол., Т.68, С.125-147.

[2]. Smykal, P.; Nelson, M.N.; Berger, J.D.; von Wettberg, E.J., The Impact of Genetic Changes during Crop Domestication on Healthy Food Development. // 2018, Agronomy., V.8, P.119.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ СОРТОВ РИСА НА ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ

Зеленский Г.Л.<sup>1,2</sup>, Зеленская О.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Всероссийский НИИ риса», Россия, Краснодар, пос. Белозерный, 3;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский ГАУ им. И.Т. Трубилина», Россия, Краснодар, ул. Калинина, 13  
[zelensky08@mail.ru](mailto:zelensky08@mail.ru)

Рис является основной крупяной культурой Российской Федерации. В Краснодарском крае производится более 80 % российского риса. Последние годы урожайность культуры здесь составляет 7,1-7,3 т/га. Производство кубанского риса в 2016 г. достигло 1 млн. т. Это стало возможным за счет внедрения новых сортов риса, адаптированных к местным условиям, и совершенствования агротехники их выращивания.

Во Всероссийском НИИ риса создаются разнотипные сорта, отвечающие требованиям современного производства. В Госреестр РФ включено и допущено к использованию более 30 сортов кубанской селекции.

Одним из основных направлений является селекция высокопродуктивных сортов риса, устойчивых к стрессовым факторам среды. Среди последних особо выделяются болезни, прежде всего пирикулярриоз, засоление почвы, суховеи в сочетании с температурой воздуха свыше 35 °С в период цветения и налива зерна.

Создание сортов риса, устойчивых к пирикулярриозу, ведется с учетом установленных фитопатологами в европейской части России эффективных генов  $Pi-z$ ,  $Pi-z^t$ ,  $Pi-ta^2$ ,  $Pi-b$ . Выделенные из коллекции образцы риса *Maratelli 5 A* и ВНИИР 7630, явились донорами гена  $Pi-z$  при формировании гибридных популяций, из которых отселектированы сорта с расоспецифической устойчивостью к пирикулярриозу: Бластник, Витязь, Талисман, Водолей и Снежинка. В последующей работе эти сорта использованы в качестве родительских форм при селекции сортов нового поколения: Атлант, Кумир, Южный, Гамма, Олимп. Эти сорта, внесенные в Госреестр РФ селекционных достижений, допущенных к использованию, отличаются высокой продуктивностью и устойчивостью к пирикулярриозу.

У неустойчивых к воздушной засухе сортов риса увеличивается стерильность колосков, формируется щуплое зерно и, как следствие, снижается урожайность.

В результате внутривидовой гибридизации создан длиннозерный сорт Австрал, у которого, в отличие от всех возделываемых сортов риса, при повышении температуры свыше 28 °С листья сворачиваются в трубку. При этом происходит уменьшение площади испарения, растение меньше тратит энергии на охлаждение и не снижает продуктивность. Австрал внесен в Госреестр РФ охраняемых селекционных достижений. Был составлен его примерный генотип:  $sd, an, Wh, Lp, Lx, lk, Aul, Lg, J, rl, er$ . При использовании Австрала в качестве донора признака сворачиваемости листьев получен принципиально новый селекционный материал для создания высокопродуктивных сортов риса, устойчивых к воздушной засухе.

## ГЕНО-ИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Харченко П.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Россия, г. Москва 127550, ул. Тимирязевская, 42.*

*iab@iab.ac.ru*

За последние 100 лет урожайность многих сельскохозяйственных культур увеличилась более чем в семь раз. Это стало возможным благодаря достижениям научно-технического прогресса и выведению новых сортов сельскохозяйственных культур с использованием генетических технологий. В настоящее время в мире значительные площади заняты под сортами, полученными с использованием генно-инженерных технологий (около 200 млн. га). Это стало возможным благодаря высокому экономическому эффекту от использования таких культур. В Российской Федерации также созданы ряд генно-инженерных линий пшеницы, сливы, томата, яблони, груши и других культур, которые могут иметь высокий потенциал при использовании в сельскохозяйственном производстве. Однако, в нашей стране это запрещено на законодательном уровне. Другой перспективной технологией является технология геномного редактирования. Она позволяет направленно вносить изменения (мутации) в конкретных генах. При этом в геномах растений не остается генно-инженерных конструкций. Это позволяет надеяться на то, что сорта, созданные с использованием методов геномного редактирования, не будут подпадать под ограничения в отличие от ГМ-растений. В настоящее время активно ведутся работы по генетическому редактированию генов основных сельскохозяйственных культур (пшеница, картофель, томат, сахарная свекла и др.).

Работа выполнена в рамках государственного задания № 0574-2019-0002 (AAAA-A18-118051890089-0) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ГЕКСАПЛОИДОВ С ГЕНОМОМ *Ae. TAUSCHII* (AABBDD) И СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Шаманин В.П.<sup>1</sup>, Потоцкая И.В.<sup>1</sup>, Шепелев С.С.<sup>1</sup>, Пожерукова В.Е.<sup>1</sup>, Трущенко А.Ю.<sup>1</sup>,  
Чурсин А.С.<sup>1</sup>, Моргунов А.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Омский ГАУ, Россия, Омск, 644008, Институтская пл., 1

<sup>2</sup>Представительство СИММИТ в Турции, Турция, Анкара, 06511, Р.К. 39 Етек

[vp.shamanin@omgau.org](mailto:vp.shamanin@omgau.org)

Расширение генетического разнообразия пшеницы составляет основу для повышения устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды и увеличения урожайности сортов, которое может быть достигнуто за счет привлечения в гибридизацию всего разнообразия генетических ресурсов близкородственных видов и родов. Омским ГАУ при сотрудничестве с СИММУТ в университете Nebraska-Lincoln (США) проведено генотипирование образцов из коллекционного питомника Омон-ГАИ, включающего линии синтетической гексаплоидной пшеницы, полученных на основе разнообразного материала твердой пшеницы и образцов *Ae. tauschii* селекции СИММУТ и японского университета Киото (52 образца)[1], сортов мягкой пшеницы из России, Казахстана, США и Канады (91 образец). Идентификация SNP (single nucleotide polymorphism) проводилась с использованием программы TASSEL (v. 5.2.40), GBS (v. 2 Pipeline) и физической карты референсного генома пшеницы от International Wheat Genome Sequencing Consortium (IWGSC, RefSeq, v1.0). Анализ структуры популяции образцов питомника Омон-ГАИ позволил выделить 4 группы. Первая группа включала 13 образцов японских синтетиков, вторая группа – 30 образцов синтетиков СИММУТ, третья – представляла сорта из США и Канады, причем четыре из них оказались в четвертой группе, состоящей из 77 образцов Казахстана и России. Группы 1 и 2 четко отличались друг от друга и от двух остальных групп, в то время как образцы США/Канада и образцы Россия/Казахстан в значительной степени имели нечто общее, несмотря на их различное географическое происхождение. Анализ молекулярной изменчивости показал, что 27,7% варибельности наблюдалось между четырьмя группами, в то время как 72,3% изменчивости объяснялось вариацией внутри групп. Статистические показатели генетической структуры популяции Омон-ГАИ показали, что эффективное число аллелей было наивысшим у синтетиков СИММУТ (1,48) и самым низким – у синтетиков Японии (1,25). Эффективное число аллелей и наблюдаемая гетерозиготность ( $H_0$ ) синтетической пшеницы были несколько выше, чем у сортов России, Казахстана и США. По генетическому разнообразию генов ( $H_S$ ) синтетики существенно превышали сорта мягкой пшеницы:  $H_S=0,313$  в сравнении с  $H_S=0,235$  у сортов. Таким образом, генетическое разнообразие синтетиков было на 33,2% выше, чем у образцов мягкой пшеницы [2]. Результаты исследования свидетельствуют о значительной селекционной ценности синтетических гексаплоидов для расширения генотипического потенциала мягкой пшеницы.

[1]. Morgounov A., Abugalieva A., Akan K., Akın B., Baenziger S., Bhatta M. et al. High-yielding winter synthetic hexaploid wheats resistant to multiple diseases and pests // 2017, Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization, V.16(3), P.273-278.

[2]. Bhatta M., Morgounov A., Belamkar V., Poland J., Baenziger S. Unlocking the novel genetic diversity and population structure of synthetic Hexaploid wheat // 2018, BMC Genomics, V.19(1), P.591.

**Благодарности:** данная работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект № 16-16-10005).

## РАЗНООБРАЗИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ, ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ И ДРУГИХ ПРИЗНАКОВ В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЛЬНА ВИР: ЕГО ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Брач Н.Б., Кутузова С.Н., Павлов АВ., Пороховинова Е.А.

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44;

[n.brutch@vir.nw.ru](mailto:n.brutch@vir.nw.ru)

Генетическая коллекция льна ВИР (ГК) начала создаваться в 70-х годах прошлого века и сейчас насчитывает 523 линии шестого и более поколений инбридинга, контрастных по самым различным признакам. Большинство линий оценены по морфологическим признакам цветка и семян, окраске, форме и размерам растений, ЦМС, продолжительности фаз вегетационного периода, компонентам урожайности, устойчивости к болезням, фоточувствительности (ФЧ), жирнокислотному составу масла, химическим компонентам слизи семян, содержанию и качеству волокна, содержанию целлюлозы в стебле и др. У части линий изучено наследование этих признаков.

Идентифицирован 41 ген морфологических признаков, которые можно использовать для теоретических исследований и маркирования новых селекционных сортов.

Гибридологический анализ, проведенный методом Мазера и Джинкса показал, что сроки цветения и созревания контролируются разными генетическими системами и их минимальную продолжительность можно объединять в одном генотипе. Таким образом было создано 4 донора скороспелости льна. Установлено, что число листьев на стебле наследуется сходно со временем цветения и является его индикатором. У линии гк-109 выявлена ассоциация гена *wf1* (белая окраска венчика) с ранним цветением и малым числом листьев. Высота растений льна-долгунца наследуется независимо от фаз вегетационного периода, что дает возможность выводить ранние высокорослые сорта.

В ГК входят линии-дифференциаторы генов вирулентности ржавчины (*Melampsora lini* L.). Помимо открытых Флором 5 генов устойчивости к этой болезни, был идентифицирован новый ген Q. На основе скороспелых сортов льна-долгунца созданы 19 доноров с разными генами устойчивости к ржавчине.

Изучение чувствительности линий к короткому (12 часов) фотопериоду выявило ряд устойчивых генотипов. Установлено, что у льна слабая ФЧ не связана с ранним цветением. Возможны любые варианты сочетаний сроков цветения со степенью ФЧ. С использованием полученных данных на основе гибрида рано цветущей ФЧ белоцветковой линии гк-109 и поздноцветущей слабо ФЧ фиолетовоцветковой линии гк-375 была создана картирующая популяция, насчитывающая более 200 линий шестого поколения инбридинга. Установлено, что ген *wf1* проявляет ассоциацию с ранним цветением и малым числом листьев только в условиях длинного дня.

Проводится изучение наследования содержания линоленовой кислоты в масле семян. Разработан новый CAPS маркер для обнаружения гена низколиноленовости (НЛ) *LuFAD3A*. Созданы НЛ скороспелые линии.

## СОЗДАНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ФОРМ ДЛЯ РАСШИРЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА ОСНОВЕ ГЕНОФОНДА ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ

Давоян Р. О.<sup>1</sup>, Бебякина И. В.<sup>1</sup>, Давоян Э. Р.<sup>1</sup>, Миков Д. С.<sup>1</sup>, Зубанова Ю. С.<sup>1</sup>,  
Болдаков Д. М.<sup>1</sup>, Зинченко А. С.<sup>1</sup>, Бадаева Е. К.<sup>2</sup>, Салина Е. А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», Краснодар, Россия; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН», Москва, Россия;

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН», Новосибирск, Россия

[davoyanro@mail.ru](mailto:davoyanro@mail.ru)

Генофонд многочисленных родственных мягкой пшенице дикорастущих видов трибы *Triticea* представляет значительный резерв генетического разнообразия для культурной пшеницы. Для большинства из них необходимо создание «мостиков» - синтетических форм с тем, чтобы их генетическое разнообразие преобразовать в форму, доступную для традиционной селекции. С этой целью были созданы синтетические геномно-замещенные формы Авродес (BBAASS), Аврозис (BBAAS<sup>sh</sup>S<sup>sh</sup>), Авролата (BBAAUU), Авротата (BBAAU<sup>M</sup>U<sup>M</sup>), Авроале (BBAARR) и геномно-добавленные формы *T. miguschovae* (GGAADD) и *Mutico italicum/Ae. squarrosa* (BBAADD). На их основе получены вторичные рекомбинантные синтетики (RS формы), у которых первые два генома А и В происходят от мягкой пшеницы, а третий (рекомбинантный) геном состоит из хромосом разных родственных пшенице видов - BBAASD, BBAASR, BBAASS<sup>sh</sup>, BBAASU и BBA<sup>G</sup>A<sup>G</sup>SD. С использованием созданных синтетических форм получено большое количество интрогрессивных линий с устойчивостью к одной и более болезням, высоким содержанием белка и клейковины и другими ценными для селекции признаками. Установлено, что генетический материал диких видов в изученных линиях представлен в виде как одиночных транслокаций и замещенных хромосом, так и их комбинаций. В частности, с использованием методов C-banding и FISH идентифицированы линии, несущие 2 транслокации и 1-2 замещенные хромосомы от *T. miguschovae*: линия Д79п10 - T1BL.1RS + T5BS.5BL-6GL + T6BS.6BL-6GL + 1D(1D<sup>b</sup>), 6D(6D<sup>b</sup>); линия 985п13 - T5BS.5BL-5GL/N + T6BS.6BL-6GL + 1D(1D<sup>b</sup>), 6D(6D<sup>b</sup>). Интрогрессии от синтетической формы Авродес в основном затронули хромосомы генома D, при этом большинство изученных линий одновременно несут транслокации на хромосомах 2D и 5D. Транслокация от *Ae. speltoides* на 5D хромосоме является новой и поэтому можно предположить передачу нового гена(ов) от этого вида мягкой пшенице. К новым также относятся транслокации 7DS.7DL-T7US в линии 3379 и 2DS.2DL-2UL в линии 4626, полученные от синтетической рекомбинантной формы RS7 (BBAAUS). С использованием ДНК-маркеров проведено изучение полученных интрогрессивных линий на наличие генов устойчивости к листовой ржавчине. Отобраны линии с комбинациями из 2-х и 3-х известных чужеродных генов, а также линии с не идентифицированными ранее генами устойчивости к этой болезни. С использованием полученных интрогрессивных линий к настоящему времени создано 5 сортов озимой мягкой пшеницы.

## ЛОКАЛИЗАЦИЯ МУТАЦИЙ В ХЛОРОПЛАСТНОМ И МИТОХОНДРИАЛЬНОМ ГЕНОМАХ АЛЛОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ЦМС

Усатов А.В.<sup>1</sup>, Макаренко М.С.<sup>1</sup>, Азарин К.В.<sup>1</sup>, Гаврилова В.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Россия, Ростов-на-Дону, 344091, пр. Стачки 194/1

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, 190000 ул. Большая морская 42  
[usatova@mail.ru](mailto:usatova@mail.ru)

Методом высокопроизводительного параллельного секвенирования (NGS) нами были получены полные нуклеотидные последовательности хлДНК и мтДНК аллоплазматических линий подсолнечника из коллекции ВИР фертильной формы НА89 и 4-х стерильных, с различными типами ЦМС – НА89(РЕТ1), НА89(РЕТ2), НА89(АНН2), НА89(МАХ1). В результате сравнительного анализа хлДНК ЦМС линий с фертильным аналогом выявлены 451 полиморфных сайта, в том числе 58 (12,9 %) SSR, 317 (70,2 %) SNP и 76 (16,9 %) INDEL полиморфизмов. Микросателлитные локусы в основном представлены полиА и полиТ повторами. Из 317 обнаруженных SNP, 120 локализованы в кодирующих участках генов, 59 из этих замен являются несинонимичными. Среди ЦМС линий наибольшее число полиморфизмов в сравнении с фертильным аналогом было обнаружено у НА89(МАХ1) – 239, наименьшее у НА89(РЕТ1) – 33. Наиболее полиморфными оказались межгенные области *psbM-rpoB*, *atpA-psbD*, *rps4-ndhJ*, *ndhc-atpE*, а также гены *ndhF* и *usc1*. Интересно, что у линии НА89(РЕТ2), полученной также как и НА89(РЕТ1) в результате межвидового скрещивания *H.petiolaris* с культурным подсолнечником *H. annuus*, количество INDEL полиморфизмов более чем в четыре раза, а количество SNP более чем в 6,5 раз превышает таковое у НА89(РЕТ1). В отличие от хлДНК, мтДНК стерильных аналогов отличалась от фертильной формы, как незначительными изменениями структуры, так и крупными реорганизациями генома. В частности, в мтДНК НА89(РЕТ1) обнаружены инверсия (11852 п.н.), инсерция (4732 п.н.), делеция (451 п.н.), 8 SSR, 7 SNP и 2 INDEL полиморфизмов; в мтДНК НА89(РЕТ2) - 2 транспозиции (27,5 и 106,5 т.п.н.), 2 делеции (711 и 3780 п.н.), 2 инсерции (5050 и 15885 п.н.), 14 SSR, 55 SNP и 13 INDEL полиморфизмов; в мтДНК НА89(АНН2) – 10 транспозиций, 10 делеций, 8 инсерций, 18 SSR, 293 SNP, 37 INDEL полиморфизмов; в мтДНК НА89(МАХ1) - транспозиция (110 т.п.н.), 4 делеции (439, 978, 3183 и 14296 п.н.), 3 инсерции (1999, 5272 и 6583 п.н.), 17 SSR, 230 SNP и 29 INDEL полиморфизмов. Выше приведенные реорганизации структуры мтДНК у стерильных форм относительно фертильного аналога привели не только к изменению размера митохондриального генома, но и к возникновению в мтДНК новых открытых рамок считывания, а именно: НА89(РЕТ1) - *orf306*, *orfH522*; НА89(РЕТ2) - *orf228*, *orf285*, *orf645*, *orf2565*; НА89(АНН2) - *orf324*, *orf327*, *orf345*, *orf405*, *orf558*, *orf933*, *orf1197* и НА89(МАХ1) - *orf306*, *orf480*, *orf645*, *orf1287*.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ, проект № 6.929.2017/4.6.

**Симпозиум VI: Посттрансляционные процессы / Symposium VI:  
Posttranslational Processes****FUNCTIONAL PRIONS AS EPIGENETIC REGULATORS**Derkatch I.L.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>NYU Langone Health, USA, New York, 550 First Avenue, 10016; <sup>2</sup>, Columbia University, College of Physicians and Surgeons, USA, New York, 645 Kolb Research Annex, 10032, (previous affiliations where research was performed)

[irina.derkatch@gmail.com](mailto:irina.derkatch@gmail.com)

Prions were initially associated with deadly diseases. However, gradually accumulating evidence indicates the existence of functional self-propagating aggregated prion-like states in various organisms, from yeast, to mice and humans. Based on new and published data for Pub1/TIA1 [1], Sup35/GSPT2 [1], CPEB3 [2], and Lsm4, I intend to review recent advances in the understanding of structural organization of prion domains that drive the formation of functional self-propagating protein conformations, and present a model for the role of such conformations in the assembly of multiprotein complexes and epigenetic regulation of cellular processes. According to this model, proteins undergo conformational switching into prion conformations in response to cellular signaling, and the resulting self-propagating structures are anchored at a particular cellular location, thus creating a localized functional compartment. Three specific examples of such functional prionization will be discussed. The first is a tubulin-associated complex containing oligomers of Pub1 and Sup35, components of translational machinery, and *TUB1* mRNA. The complex is involved in maintaining the integrity of the tubulin cytoskeleton [1]. The second complex contains the CPEB3 protein, a translational regulator that controls switching between inhibition and activation of protein synthesis and is implicated in long-term memory maintenance in mice. The complex is formed in response to synaptic stimulation and is associated with the actin cytoskeleton. A tripartite architecture of the CPEB prion domain ensures interaction with actin, one of CPEB3 targets, which is essential for its prionization [2]. The third complex contains the yeast Lsm4, a P-body-associated activator of mRNA decapping essential for rapid switching between mRNA storage and degradation. Prion-like aggregation of Lsm4, which is controlled by chaperones and activated by environmental changes, such as temperature drop to 4<sup>0</sup>C, leads to the increase in the number of P-bodies and their clustering around Lsm4 aggregates, indicative of compartmentalization of mRNA turnover.

[1]. Li H., Rayman J.B., Kandel E.R., Derkatch I.L., Functional role of Tia1/Pub1 and Sup35 prion domains: directing protein synthesis machinery to the tubulin cytoskeleton. // 2014, Mol. Cell, V.55, P.305-318.

[2]. Stephan J.S., Fioritti L., Lamba N., Colnaghi L., Karl K., Derkatch I.L., Kandel E.R., The CPEB3 protein is a functional prion that interacts with actin cytoskeleton. // 2015, Cell Rep., V.11, P.1772-1785.

**Acknowledgements:** Grant support from NSF 0518482 and NIH 7 R01 GM070934-06.

## VARIANTS OF THE SUP35 PRION STRUCTURE AND THEIR RELATION TO THE [PSI<sup>+</sup>] PHENOTYPE

Kushnirov V. V.

The yeast nonsense-suppressor [*PSI*<sup>+</sup>] determinant is related to the prion form of the Sup35 (eRF3) protein and has variants differing in the strength of nonsense suppression and mitotic stability.

The results of mapping of Sup35 amyloid cores from various [PSI<sup>+</sup>] prion variants using proteinase K and mass spectrometry will be presented, and the relation of these structures to variation of the [PSI<sup>+</sup>] phenotype will be considered.

The work was supported by Russian Scientific Foundation grant #17-14-01092

## АМИЛОИДЫ – БЕСПОЩАДНЫЕ УБИЙЦЫ И НЕЗАМЕНИМЫЕ ПОМОЩНИКИ

Галкин А.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Санкт-Петербургский филиал, Санкт-Петербург, Россия, Университетская наб., д. 5;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург, Россия, Университетская наб., д. 7/9

[argalkin@mail.ru](mailto:argalkin@mail.ru)

Амилоиды представляют собой фибриллы, в которые объединяются мономеры белка за счёт образования упорядоченных межмолекулярных кросс-бета структур. Несмотря на высокий интерес научного сообщества к исследованию амилоидов, наши знания о распространённости и биологической значимости этих фибриллярных структур крайне ограничены. По всей вероятности, охарактеризованные на сегодняшний момент амилоиды – это лишь вершина айсберга. Из-за отсутствия универсальных биохимических подходов к идентификации амилоидов до недавнего времени они выявлялись в основном случайно, при исследовании определённых патологий или изучении структурных свойств отдельно взятых белков. Исходно интерес к амилоидам был вызван тем, что они ассоциированы с нейродегенеративными заболеваниями и другими неизлечимыми болезнями, поражающими миллионы людей. К числу нейродегенеративных амилоидозов относятся болезни Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона. В докладе будут рассмотрены гипотезы, объясняющие повышение частоты этих заболеваний у людей преклонного возраста. Особое внимание будет уделено поиску факторов, способствующих разборке амилоидных фибрилл. Наряду с болезнетворными, известны и функциональные амилоиды, которые регулируют жизненно-важные процессы. Они обнаружены у бактерий, дрожжей, беспозвоночных и позвоночных животных. Недавно мы разработали универсальный метод протеомного скрининга, позволяющий проводить системный поиск амилоидов в любых органах и тканях. Нам удалось, выявить ряд белков, которые являются кандидатами на роль функциональных амилоидов в мозге млекопитающих. Для некоторых из них амилоидные свойства уже подтверждены. В частности, мы показали, что белок FXR1, контролирующий память и эмоциональное состояние, функционирует в головном мозге в амилоидной форме. Олигомеры FXR1 в нейронах головного мозга связывают определённые молекулы РНК и предохраняют их от деградации. Кроме того, мы показали, что основной белок миелиновых оболочек (MBP) представлен в мозге исключительно в виде амилоидных конформеров, что, вероятно, важно для защиты нервных волокон. Таким образом, одни амилоиды вызывают нейродегенерацию, а другие регулируют работу мозга. Проведённые нами исследования показывают также, что амилоидные свойства демонстрируют некоторые ядерные и цитоплазматические белки в ооцитах птиц и дрозофилы. Представленные данные свидетельствуют о том, что использование новой методологии открывает широкие перспективы для исследования распространённости и значимости амилоидов в живой природе.

## PHYSICAL PRINCIPLES BEHIND EPIGENETIC REGULATION OF CANONICAL AND CENTROMERIC NUCLEOSOMES

Papoian G.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Maryland, USA, College Park

[gpapoian@umd.edu](mailto:gpapoian@umd.edu)

DNA is strongly compacted in cells of higher organisms, aided by the positively charged proteins, called histones, where the latter help to fold DNA into dense superstructures, called chromatin. Flexible tails protruding from histones mediate and maintain nucleosomal packaging in chromatin fibers and, thus, significantly contribute to chromosomal remodeling and gene activation processes. The physical mechanisms behind chromatin assembly and dynamics are still not fully understood. To shed light on these problems, we used atomistic and coarse-grained simulations to investigate the conformational dynamics of regular nucleosomes as well as ones where the H3 histone is substituted by its centromeric variant, CENP-A. Despite close structural similarity, we found profound differences in the dynamics of these nucleosomes. In particular, we discovered that the CENP-A nucleosomes are more structurally distortable in the context of dimeric and octameric complexes, but more compact and rigid in the tetramer state. AFM and *in vivo* microscopy experiments have validated our computational predictions. In addition, we carried out a large-scale computational exploration of the acetylation landscape of the H4 histone tail, the latter being a salient example of an intrinsically disordered protein. We found that the combinatorics of multiple acetylations are manifested both via specific and cumulative mechanisms. Our findings shed light on how specific post-translational modifications of histone tails may control chromatin compaction.

## ПОИСК И АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ПЕПТИДЕ АБЕТА-42 ЧЕЛОВЕКА, ВЛИЯЮЩИХ НА НУКЛЕАЦИЮ АМИЛОИДА

Маликова О.А.<sup>1</sup>, Зобнина А.Е.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9, 199034; <sup>2</sup>Georgia Institute of Technology, USA, Atlanta, GA 30332-2000

[oks\\_malik@mail.ru](mailto:oks_malik@mail.ru)

Амилоидозы – это заболевания, характеризующиеся агрегацией белков аномальной укладки и их отложением в различных тканях и органах организма. Одним из наиболее известных амилоидозов является болезнь Альцгеймера - нейродегенеративное заболевание, развивающееся преимущественно у людей пожилого возраста и ставшее одной из главных причин смертности в развитых странах. При болезни Альцгеймера наблюдается патологическое накопление пептида амилоида бета (преимущественно изоформы Abeta-42), образующегося в результате протеолитического процессинга белка APP (Amyloid Precursor Protein). Пептид Abeta может образовывать олигомеры и большие скопления («бляшки») амилоидного типа. В соответствии с наиболее общепринятой моделью болезни Альцгеймера, амилоидная мультимеризация Abeta запускает процессы, которые, в конечном счёте, приводят к гибели нейронов. В настоящее время механизмы, приводящие к индукции мультимеризации (нуклеации) Abeta, изучены недостаточно. Мутационный анализ является эффективным подходом для проверки способности Abeta-42 к нуклеации амилоидов *in vivo*, но его трудно вести в клетках человека из-за отсутствия легко тестируемых фенотипов.

В данной работе для исследования нуклеации пептида Abeta-42 применялась дрожжевая тест-система, использующая химерные конструкции Abeta-42 и прионного домена дрожжевого белка Sup35 (фактора терминации трансляции). Эта система позволяет выявлять нуклеацию пептида Abeta-42 фенотипически в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, через прионизацию и снижение функции полноразмерного белка Sup35 [1]. Мы получили библиотеку мутантных последовательностей, кодирующих Abeta-42 и идентифицировали миссенс-мутации (одинокные и множественные), снижающие нуклеацию амилоидов Abeta-42 в дрожжах. Будут представлены данные биохимического и цитологического анализа механизмов эффекта этих мутаций на процесс нуклеации амилоида и рассмотрены модели, связывающие эффекты мутаций со структурой амилоида Abeta-42.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке проекта ... (СПбГУ) и при помощи РЦ «ЦКП ХРОМАС» и «РМиКТ» СПбГУ.

[1] Chandramowliswaran P. et al., Mammalian amyloidogenic proteins promote prion nucleation in yeast. // 2018, J. Biol. Chem. V. 293(9), P.3436-3450.

## КОАГРЕГАЦИЯ БЕЛКОВ В СОСТАВЕ АМИЛОИДОВ: КЛАССИФИКАЦИЯ И ПОИСК НОВЫХ ПРИМЕРОВ

Бондарев С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург,  
Университетская набережная 7-9

[stanislavspbgu@gmail.com](mailto:stanislavspbgu@gmail.com), [s.bondarev@spbu.ru](mailto:s.bondarev@spbu.ru)

Амилоиды – это неразветвлённые белковые фибриллы, обладающие характерной пространственной структурой и свойствами. Хотя впервые эти агрегаты были описаны в связи с развитием неизлечимых заболеваний, на сегодняшний день становится очевидно, что эти комплексы необходимы для выполнения различных функций в живых системах. Формирование амилоидов в первую очередь связано с изменением структуры одного конкретного белка, тем не менее, описан целый ряд случаев, когда в состав агрегатов могут входить разные белки. Такая коагрегация может иметь различные последствия для организма: приводить к ускорению или замедлению патологической агрегации, либо быть частью функционального каскада (например, сборка некрсомы в клетках человека или формирование *curl* на поверхности бактерий). Несмотря на уже известное многообразие этого феномена до недавнего времени отсутствовала единая классификация молекулярных механизмов, которые лежат в его основе. Мы восполнили этот пробел и предложили разделить способы взаимодействия белка с амилоидными агрегатами на четыре группы: титрование, секвестрирование, аксиальная и латеральная коагрегация [1].

Кроме обобщения известных случаев включения разных белков в состав амилоидов мы провели поиск новых примеров этого явления в протеоме человека. Данные о физических взаимодействиях между белками были взяты из базы данных BioGRID, а для предсказания амилоидогенных свойств белков были использованы программы ArchCandy и IUPred. В ходе проведённого анализа нам удалось идентифицировать сети потенциально амилоидогенных белков, которые физически взаимодействуют с патологическими (амилоид  $\beta$ , хантингтин,  $\alpha$ -синуклеин) и функциональными амилоидами человека (белки Rip1 и Rip3). Для ряда идентифицированных белков нам удалось продемонстрировать амилоидные свойства *in vivo* в клетках дрожжей и бактерий, а также в системе *in vitro*. На основании полученных данных мы можем предполагать существование как минимум одной амилоидной сети, объединяющей широко известные амилоидозы: болезнь Альцгеймера, Хантингтона и Паркинсона.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (17-74-10159) и РФФИ (17-54-150002), ресурсных центров СПбГУ: «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и «Вычислительный центр».

[1]. Bondarev S.A., Antonets K.S., Kajava A.V., Nizhnikov A.A., Zhouravleva G.A., Protein Co-Aggregation Related to Amyloids: Methods of Investigation, Diversity, and Classification // 2018, Int. J. Mol. Sci., V.19(8), P. E2292.

## PREDICTING RISK OF AMYLOIDOSES BY DETECTION OF STRUCTURAL DETERMINANTS OF AMYLOIDS IN PROTEINS

Kajava A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Centre de Recherche en Biologie cellulaire de Montpellier CNRS, Institut de Biologie Computationnelle, Montpellier, France*

Over the past decade, substantial progress has been made in understanding the structure of an important type of the aggregates called “cross-beta amyloid fibrils”. Progress has stemmed largely from the application of solid state NMR, scanning transmission electron microscopy mass measurements and cryo-electron microscopy. The number of structural data about naturally-occurring and disease-related cross-beta amyloids is now large enough to support a systematic analysis. In this presentation, I will describe the known “pathogenic fold” determinant of the amyloids. I will demonstrate how this structural information can be used to successfully predict amyloidogenicity of proteins based on their amino acid sequence [1,2,3,4]. In particular, our bioinformatics tools are able to predict which mutations in the A $\beta$  peptide may lead to more serious disease states (earlier onset), and which mutations make individuals resistant to the occurrence of Alzheimer’s disease. As whole genome sequencing becomes cheaper, our method provides opportunity to create individual risk profiles for the neurodegenerative and other diseases ushering in an era of personalized medicine.

**Keywords:** aging, precision medicine, structural biology, bioinformatics, genome sequencing, drug design

### References:

1. Ahmed A.B., Znassi N., Château M.T., Kajava A.V. - A structure-based approach to predict predisposition to amyloidosis. (2015) *Alzheimers Dement.* 11(6):681–690.
2. D. B. Roche, E. Villain and A. V. Kajava - Usage of a dataset of NMR resolved protein structures to test aggregation versus solubility prediction algorithms (2017) *Protein Science* 26(9), 1864-1869
3. S. A. Bondarev, O. V. Bondareva, G. A. Zhouravleva and A. V. Kajava - BetaSerpentine: a bioinformatics tool for reconstruction of amyloid structures (2018) *Bioinformatics* 34(4):599-608.
4. R. A. Azizyana, A. Garro, Z. Radkova, A. Anikeenko, A. Bakulina, C. Dumas and A. V. Kajava - Establishment of constraints on amyloid formation imposed by steric exclusion of globular domains (2018) *J. Mol. Biol* 430(20):3835-3846.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА, АССОЦИИРОВАННОЙ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ GBA. РАЗРАБОТКА ПОДХОДОВ К ЛЕЧЕНИЮ

Пчелина С.Н.<sup>1,2,3</sup>, Николаев М.А.<sup>1,2</sup>, Рычков Г.Н.<sup>1</sup>, Копытова А.Э.<sup>1,2</sup>, Сенкевич А.К.<sup>1,2,3</sup>,  
Байдакова Г.В.<sup>4</sup>, Милюхина И.В.<sup>1,2,3</sup>, Захарова Е.Ю.<sup>4</sup>, Емельянов А.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Петербургский Институт Ядерной Физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», г. Гатчина; <sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Санкт-Петербург; <sup>3</sup>Институт экспериментальной медицины, г. Санкт-Петербург; <sup>4</sup>Медико-генетический научный центр, г. Москва

[pchelina\\_sn@pnpi.nrcki.ru](mailto:pchelina_sn@pnpi.nrcki.ru)

Мутации в гене лизосомного фермента глюкоцереброзидазы (GBA) повышают риск развития болезни Паркинсона (БП) в 6-7, в гомозиготном состоянии приводят к развитию аутосомно-рецессивного заболевания, болезни Гоше (БГ), относящегося к классу лизосомных болезней накопления. Мутации N370S, L444P, c.84dupG, IVS2+1 составляют до 75% мутантных аллелей. Ранее нами выявлен ряд пациентов с БП, ассоциированной с мутациями в гене GBA (GBA-БП) [1] и показано, что пациенты с GBA-БП характеризуются снижением ферментативной активности GBA, а также накоплением лизосфинголипидов и олигомерных форм альфа-синуклеина в крови [2,3], что указывает на возможность использования стратегии повышения активности GBA для разработки подходов к терапии данной формы заболевания.

Методами молекулярной динамики нами построена полноатомная модель нормальной и мутантной GBA с учетом гликозилорования. На поверхности фермента описано 7 потенциальных сайтов связывания малых молекул. Молекулярный докинг описанных в последние годы двух известных аллостерических активаторов GBA показал их связывание в сайте, расположенном вблизи мутации N370S, что может объяснять механизм их действия. Также нами впервые проведены исследования по восстановлению ферментативной активности мутантной GBA при культивировании макрофагов периферической крови пациентов с БГ (N=7) в присутствии изофагомина и амброксола с последующей оценкой ферментативной активности GBA и концентрации лизосфинголипидов методом tandemной масс-спектрометрии (ВЖХ-МСМС) в сухом пятне клеток. Оба соединения показали активность в восстановлении ферментативной активности GBA. Более значимо активность фермента возрастала при воздействии изофагомина. При культивировании макрофагов пациентов с БГ с генотипом N370S/L444P в присутствии изофагомина активность GBA восстанавливалась до значений аналогичных наблюдаемым в контрольной группе, в то время как при наличии тяжелых мутаций (генотип N370S/c.84 dupG) ферментативная активность повышалась незначительно. Изофагомин и амброксол также показали эффективность в восстановлении ферментативной активности GBA при культивировании макрофагов пациентов с GBA-БП (N=5). Проведенное исследование позволило объяснить механизм действия известных аллостерических шаперонов GBA, а также показало эффективность использования макрофагов периферической крови человека для скрининга потенциальных фармакологических шаперонов GBA. Фармакологические шапероны GBA могут быть эффективны как в терапии БГ, так и GBA-БП.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-75-20159.

[1]. Emelyanov A.K., Analysis of genetic variability in Parkinson's disease in Russia. // 2018, Neurobiol. Aging, V.71C, P. 272. [2]. Pchelina S., Oligomeric  $\alpha$ -synuclein and glucocerebrosidase activity levels in GBA-associated Parkinson's disease. // 2017, Neurosci. Lett., V. 636, P.70–76. [3]. Pchelina S.N., Blood lysosphingolipids accumulation in patients with Parkinson's disease with GBA mutations. // 2018, Mov. Disord., V. 33, P.1316-1321.

## PATHOGENESIS OR SYMBIOSIS? PROBABLE ROLE OF FUNCTIONAL PROTEIN AGGREGATION IN DEVELOPING SUPRA-ORGANISMAL INTERACTIONS

Belousov M.V.<sup>1,2</sup>, Tikhonovich I.A.<sup>1,2</sup>, Antonets K.S.<sup>1,2</sup>, Belousova M.E.<sup>1</sup>, Shtark O.Y.,  
Nizhnikov A.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory for Proteomics of Supra-Organismal Systems, All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, 196608 Podbelskogo sh., 3, Pushkin, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> St. Petersburg State University, 199034 Universitetskaya nab., 7/9, Russia

[a.nizhnikov@arriam.ru](mailto:a.nizhnikov@arriam.ru), [belousovmix@gmail.com](mailto:belousovmix@gmail.com)

Growing number of recent evidences suggests for the role of functional protein aggregation in developing bacterial pathogenesis. The biofilms forming by a number of phylogenetically distant species of bacteria are considered to have amyloids i.e. protein aggregates with highly ordered spatial arrangement as a primary structural component. These biofilms play crucial role in development of various bacterial infections. Also, different bacterial factors of virulence comprising proteins providing colonization of host species by pathogen are also presented by amyloids including those formed by the outer membrane proteins as well as various secreting proteins including mucin-degrading metalloproteases belonging to the M60 family. Thus, protein aggregation is important for virulence of pathogenic bacteria.

We recently performed bioinformatic analysis of the functional enrichment of potentially amyloidogenic proteins in the proteomes of bacteria of the order *Rhizobiales* that comprises both pathogenic for plants and animals and symbiotic (including nitrogen-fixing) species using previously developed method SARP [1]. These data revealed strong association between enrichment with amyloidogenic regions and relation with virulence of the proteins in the *Rhizobiales* proteomes. Amyloidogenic regions were found to co-occur with domains typical for virulence factors (hemolysin, RTX, YadA and LptD). Notably, some of these virulence factors (for example, rhizobiocins and LptD) are related to symbiosis [2]. Further experimental verification confirmed amyloid properties of several virulence factors of nitrogen-fixing *Rhizobiales* species (paper is currently in preparation).

Overall, amyloid formation is likely to be typical feature of some virulence factors of both, pathogenic and symbiotic bacteria, thus suggesting importance of amyloidogenesis in supra-organismal interactions and providing additional link for similarity of molecular mechanisms underlying pathogenesis and symbiosis.

[1]. Antonets K.S., Nizhnikov A.A. SARP: a novel algorithm to assess compositional biases in protein sequences // *Evolutionary Bioinformatics*, 2013, V.9, P.263-273.

[2]. Antonets K.S., Kliver S.F., Nizhnikov A.A. Exploring proteins containing amyloidogenic regions in the proteomes of bacteria of the order *Rhizobiales* // *Evolutionary Bioinformatics*, 2018, V.14, P.1-12.

**Acknowledgments:** The work with species belonging to the order *Rhizobiales* was supported by Russian Science Foundation, grant 17-16-01100.

## ШАПЕРОНЫ ТРИГГЕР ФАКТОР И DnaK УЧАСТВУЮТ В ФОЛДИНГЕ, НО НЕ В РЕФОЛДИНГЕ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ *BACILLUS SUBTILIS*.

Гнучих Е. Ю., Манухов И. В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>) НИЦ "Курчатовский институт" – ГосНИИгенетика, Москва 117545,

<sup>2</sup>) Московский физико-технический институт, Долгопрудный, 141700.

[gnuchih\\_evgeniy@mail.ru](mailto:gnuchih_evgeniy@mail.ru)

Проведено исследование роли шаперонов DnaK и Триггер Фактора (Tig) в процессах фолдинга и рефолдинга белков *in vivo* в клетках грамположительных бактерий *Bacillus subtilis*. В качестве исследуемых белков были использованы бактериальные люциферазы, термолабильная *Photobacterium leiognathi* (максимальная активность при 26°C) и более термостабильная *Photorhabdus luminescens* (максимальная активность при 35°C).

Определение кинетики восстановления активности (рефолдинг) термоинактивированных люцифераз проводили, измеряя интенсивность биoluminesценции клеток штаммов *B. subtilis* 168  $dnaK^+tig^+$  (дикий тип) и мутантов NBS 2001 ( $\Delta dnaK-dnaJ::Spc^r$ ), NBS 1001 ( $\Delta tig::Cm^r$ ), NBS 2002 ( $\Delta dnaK-dnaJ::Spc^r \Delta tig::Cm^r$ ), трансформированных плазмидами с генами *luxAB*, кодирующими люциферазы *P. leiognathi* или *P. luminescens*.

Показано, что, в отличие от клеток *Escherichia coli*, в которых рефолдинг термоинактивированных белков практически полностью определяется шаперонами DnaK-DnaJ-GrpE и Триггер Фактором, в клетках *B. subtilis* данная группа шаперонов в рефолдинге белков не участвует.

Для оценки сборки белка в процессе синтеза (фолдинг) в клетках *B. subtilis* также были использованы люциферазы *P. leiognathi* и *P. luminescens*.

Показано, что при росте на повышенных температурах снижен уровень синтеза активной люциферазы *P. leiognathi* в мутантном штамме 1001  $\Delta tig$ , значительно сильнее снижен в мутантном штамме 2001  $\Delta dnaKJ$  и практически полностью отсутствует в двойном мутанте 2002  $\Delta tig \Delta dnaKJ$ . Иначе зависит от активности шаперонов фолдинг термостабильной люциферазы *P. luminescens*. В штамме 1001  $\Delta tig$  синтез фермента в нативной форме значительно усиливается по сравнению с таковым в штамме *B. subtilis* 168. В мутантном штамме 2001  $\Delta dnaKJ$  уровень синтеза фермента в нативной форме несколько снижается (однако, значительно в меньшей степени по сравнению с термолабильной люциферазой *P. leiognathi*). Внесение в геном бактерии второй мутации – делеции гена *tig* (штамм 2002  $\Delta tig \Delta dnaKJ$ ) практически не влияет на уровень фолдига фермента.

Резюме: в отличие от грамотрицательных бактерий (*E. coli*), в грамположительных бактериях (*B. subtilis*) шапероны DnaKJE и Триггер Фактор участвуют в основном в фолдинге белков, т. е. в процессе трансляции на рибосомах, но не в рефолдинге термоинактивированных белков.

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПРОТЕОМА КАРТОФЕЛЯ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ СТРЕССЕ

Фесенко И.А.<sup>1</sup>, Мамаева А.С.<sup>1</sup>, Спеченкова Н.А.<sup>1</sup>, Згода В.Г.<sup>3</sup>, Калинина Н.О.<sup>1,2</sup>, Тальянский М.Э.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии РАН, Россия, Москва, ул. Миклохо-Маклая 16/10;

<sup>2</sup>Московский государственный университет, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1

<sup>3</sup> Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Россия

Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8

[fesigor@gmail.com](mailto:fesigor@gmail.com)

Поиск механизмов устойчивости растений к вирусам и патогенам представляет собой крайне актуальную задачу. Вместе с тем, произрастающие в открытом грунте растения часто подвергаются не индивидуальным, а комплексным стрессам, что затрудняет формирование устойчивости. Показано, например, что тепловой стресс стимулирует распространение вируса Y картофеля. В связи с этим, анализ ответа растительной клетки на комплексной стресс является важной задачей. Известно, что изменения уровня транскрипции генов плохо коррелируют с экспрессией белка. Поэтому, для поиска белков, обуславливающих формирование устойчивости был использован количественный протеомный анализ. Для проведения протеомных экспериментов нами были выбраны контрастные по устойчивости сорта картофеля – Гала (устойчивый к тепловому стрессу и заражению PVY) и Чикаго (чувствительный к этим стрессам). Растения картофеля инокулировали PVY и на второй день эксперимента часть растений перенесли с 22<sup>0</sup> С на 28° С (комплексный стресс). Для протеомного анализа листья картофеля обоих сортов отбирали на второй (контроль и вирусное заражение), третий и восьмой (контроль, вирусное заражение, тепловой стресс, комплексный стресс) дни после инокуляции PVY. Количественный сравнительный анализ проводили с использованием двух подходов - безметочной квантификации и с помощью изобарных меток (iTRAQ). Мы показали, что протеом растений сорта Чикаго слабо реагирует на стрессовые факторы. При этом, у растений устойчивого сорта Гала обнаружена индукция белков, участвующих в ответе на биотический стресс и тепловой шок. Например, представленность белков супероксид дисмутазы, фосфолипазы А1, бета-глюкозидазы выросла более чем в 1,5 раза в сравнении с контролем. Также, у растений этого сорта уменьшалось количество белков первичного метаболизма, понижалось количество отдельных белков, которые могут участвовать в распространении вирусов по растению (например, петкинметилэстеразы). Анализ ответа растений на комплексный стресс показал, что протеом устойчивого сорта Гала сильнее реагирует на тепловой шок, а не на вирусную инфекцию. В результате работы выявлены белки-кандидаты, обуславливающие устойчивость сорта Гала к различным видам стрессовых факторов. В числе этих белков кислая бета-глюканаза класса II, мультицистатин, кальретикулин и ферменты антиоксидантной защиты.

**Благодарности:** Данное исследование было поддержано исследовательским грантом Правительства Российской Федерации 14.W03.31.0003.

## РОЛЬ N-ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ БЕЛКА, КОДИРУЕМОГО ГЕННОЙ МАТРЕШКОЙ NbKPIIP, В КОНТРОЛЕ ПРОПУСКНОЙ СПОСОБНОСТИ ПЛАЗМОДЕСМЫ

Ершова Н.М.<sup>1,2</sup>, Шешукова Е.В.<sup>1</sup>, Комарова Т.В.<sup>1,2</sup>, Дорохов Ю.Л.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Москва, ул. Губкина, 3

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1

[ershovanatalie@gmail.com](mailto:ershovanatalie@gmail.com)

Клетки листа соединены между собой с помощью плазмодесм, наноскопических мембранных каналов в клеточной стенке, и образуют симпласт. Только молекулы размером менее 30-40 кДа свободно перемещаются через плазмодесмы интактного растения. Однако в условиях абиотического и биотического стресса пропускная способность плазмодесм зрелого листа резко возрастает, что, по-видимому, связано с необходимостью усиленного транспорта продуктов фотосинтеза в точку роста растения [1]. Механизм связи между стрессом и функцией плазмодесмы до конца не ясен. Недавно мы обнаружили, что в ответ на абиотический стресс и вирусную инфекцию в клетках листа табака синтезируется белок, имеющий сходство с ингибитором протеазы Кунитца (NbKPIIP, Kunitz protease inhibitor like protein) [2]. Нами установлено, что NbKPIIP – это гликопротеин, который после своего синтеза в клетке, подобно транспортному белку вируса табачной мозаики, оказывается в плазмодесмах, тем самым способствуя увеличению пропускной способности плазмодесм. Используя трансгенные растения с нокаутом генов фукозил- и ксилозилтрансферазы, мы экспериментально доказали наличие нескольких сайтов N-гликозилирования. При исследовании роли гликозилирования в функционировании NbKPIIP мы получили ряд мутантных вариантов и обнаружили, что потеря способности NbKPIIP к N-гликозилированию сопровождается потерей его функции влиять на пропускную способность плазмодесм. Основываясь на наших данных, согласно которым транспортный белок вируса табачной мозаики и X-вируса картофеля способны эффективно индуцировать синтез мРНК NbKPIIP, мы предполагаем, что в процессе вирусной инфекции NbKPIIP помогает вирусному геному перемещаться из клетки в клетку.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-34-00576 (Н.М.Ершова).

### Цитируемая литература

[1]. Sheshukova, E.V., Komarova, T.V., Pozdyshev, D.V., Ershova, N.M., Shindyapina, A.V., Tashlitsky, V.N., Sheval, E.V., Dorokhov, Y.L. (2017) The Intergenic Interplay between Aldose 1-Epimerase-Like Protein and Pectin Methyltransferase in Abiotic and Biotic Stress Control, *Front. Plant Sci.*, **8**, 1646.

[2]. Sheshukova, E.V., Komarova, T.V., Ershova, N.M., Shindyapina, A.V., Dorokhov, Y.L. (2017) An Alternative Nested Reading Frame May Participate in the Stress-Dependent Expression of a Plant Gene, *Front. Plant Sci.*, **8**, 2137.

## MODEL SYNTHETIC PEPTIDES IN THE STUDY OF NON-ENZYMATIC POST-TRANSLATIONAL MODIFICATIONS (PTMs) OF PROTEINS

Frolova N.,<sup>1</sup> Nguyen V. D.,<sup>1,2</sup> Soboleva A.,<sup>2,3</sup> Dinastia E.,<sup>2,3,4</sup> Mamontova T.,<sup>2,3</sup> Balcke G.U.,<sup>5</sup> Schmidt R.,<sup>6</sup> Herfurth, U. M. <sup>7</sup> Birkemeyer C<sup>1</sup>., Frolov A<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Chemistry and Mineralogy, Universität Leipzig, Johannisallee 29, 04103 Leipzig, Germany, <sup>2</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry, Weinberg 3, 06120 Halle (Saale), Germany, <sup>3</sup>St. Petersburg State University, Department of Biochemistry, University Emb, 7/9, Saint-Petersburg, Russia, 199034, <sup>4</sup>Postovsky Institute of Organic Synthesis of Ural Division of Russian Academy of Sciences, S. Kovalevskaja str. 22/20, 620137, Ekaterinburg, Russia, <sup>5</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Cell and Metabolic Biology, Weinberg 3, 06120 Halle (Saale), Germany, <sup>6</sup>Department of Pharmaceutical Chemistry and Bioanalytics, Institute of Pharmacy, Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Wolfgang-Langenbeck-Straße 4, 06120 Halle (Saale), Germany, and <sup>7</sup>Department of Food Safety, German Federal Institute for Risk Assessment, Max-Dohrn-Str. 8-10, 10589 Berlin, Germany

[frolovanadja@yandex.ru](mailto:frolovanadja@yandex.ru)

Non-enzymatic post-translational modifications (PTMs) represent one of the main post-genomic factors, impacting on the tremendous variability of protein molecules, observed in nature. Besides well-known PTMs of enzymatic origin (e.g. phosphorylation, glycosylation and methylation), non-enzymatic covalent modifications (like deamidation, oxidation, lipoxidation and glycation) are common in proteomes of all pro- and eukaryotic organisms. Thereby, oxidation and glycation represent the most clinically relevant reactions. Glycation is usually referred to the interaction of protein lysyl and arginyl residues with carbonyl compounds – sugars and  $\alpha$ -dicarbonyls, resulting in formation of so-called advanced glycation end-products (AGEs). This process contributes thermal processing of foods, ageing of mammalian tissues and such socially important disorders, as Alzheimer, Parkinson diseases and Diabetes mellitus. The chemistry of these interactions and kinetics of AGE formation are critical for understanding of the processes, occurring in human body under pathological conditions. However, as multiple sites can be involved in glycation simultaneously, the whole protein molecule is too complex for adequate characterization of underlying mechanisms. On another hand, amino acid-based glycation models are too simple and do not consider secondary and tertiary interactions, characteristic for proteins *in vivo*. Thus, model peptides represent a good compromise for comprehensive characterization of glycation and oxidation mechanisms under the conditions ideally mimicking living organisms or thermal processing of foods. Therefore, we employ model synthetic peptides (*i*) to describe glycation patterns, characteristic for specific sugars, (*ii*) to address reactivity of individual carbonyl compounds towards selected glycation sites, (*iii*) to probe formation and degradation kinetics of individual glycation products, and (*iv*) to access characteristic tandem mass spectrometric fragmentation patterns for interpretation the data, acquired in bottom-up proteomics experiments.

## YEAST RED PIGMENT AFFECTS EXPRESSION OF AMYLOID PROTEINS INVOLVED IN NEURODEGENERATION

Mikhailova E.V., Nevzglyadova O.V., Artemov A.V., Slobodina A.D, Sarantseva S.V., Soidla T.R.

We identified the yeast red pigment (RP), a polymer of 5-amino imidazole ribotide, as a novel potential anti-amyloid agent for the therapy of neurodegenerative diseases. The effect of yeast red pigment on amyloid- beta ( $A\beta$ ) aggregation and fibril growth was studied in yeasts, fruit flies and in vitro. Yeast strains accumulating red pigment (“red” strains) contained less amyloid and had better survival rates compared to isogenic strains without red pigment accumulation (“white” strains). Yeast cells containing less red pigment had more  $A\beta$ -GFP aggregates, visualized by fluorescent microscope, despite the lower level of overall GFP fluorescence. Western blot analysis with antibodies against GFP,  $A\beta$  and A11 also revealed that “red” cells contain a considerably lower amount of  $A\beta$ -GFP aggregates as compared to “white” cells. Similar results were obtained with exogenous red pigment that was able to penetrate yeast cells. In vitro experiments with thioflavine T and TEM showed that red pigment effectively inhibits  $A\beta$  fibril growth. Transgenic flies, expressing  $A\beta$ -GFP cultivated on “red” strains, demonstrated a significant decrease in  $A\beta$  accumulation levels and brain neurodegeneration. They also shown better memory and learning indexes and higher locomotor ability.

Our next task was to validate RP for treatment of Parkinson's disease (PD). We investigated RP effects in vivo using *Saccharomyces cerevisiae* and *Drosophila melanogaster* PD models. Western blot analysis revealed reduction in the levels of insoluble  $\alpha$ -synuclein in both models. RP significantly reduced  $\alpha$ -synuclein cytotoxicity, as was revealed by immunohistochemistry in *Drosophila* and by flow cytometry in yeast. Data obtained from the yeast PD model suggests that RP antitoxic effects are associated with a drop in ROS accumulation, and slower cellular transition from the early to late apoptotic stage. Using *Drosophila* brain tissue sections, we have demonstrated that RP helps to compensate for an  $\alpha$ -synuclein-mediated reduction in the number of dopaminergic neurons and leads to better performance in animal climbing tests. Taken together, these results demonstrate the potential of RP for the treatment of PD, at least in model systems. Currently we study of RP on polyQ enriched huntingtin (htt). Red pigment involvement in cellular control of age-related apoptosis is discussed.

## Симпозиум VII: Эволюционная генетика / Symposium VII: Evolutionary Genetics

### ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДЖУНГЛИ ДОКЕМБРИЯ

Гражданкин Д.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт нефтегазовой геологии и геофизики им. А.А. Трофимука СО РАН

Россия, Новосибирск, пр. Академика Коптюга, 3

[GrazhdankinDV@ipgg.sbras.ru](mailto:GrazhdankinDV@ipgg.sbras.ru)

Палеобиология позволяет проводить калибровку молекулярно-филогенетических построений. Метаногенный углерод в составе флюидных включений в кремнях гидротермального происхождения с возрастом древнее 3.46 млрд лет назад говорит о том, что в это время уже существовали эвриархеоты и, как следствие, первый общий предок всех эукариот. Древнейшие ископаемые остатки, которые можно считать последним общим предком эукариот, имеют возраст  $1631 \pm 1$  млн лет (формация Deonar Индии). Последний общий предок просуществовал по крайней мере 600 млн лет, прежде чем началось формирование кроны. Морфологические признаки ископаемых микроорганизмов *Bangiomorpha rubescens* из формации Hunting Канадского Арктического архипелага указывают на их принадлежность к красным водорослям (группа Archeoplastida). Возраст этих остатков моложе чем Re-Os возраст  $1.048 \pm 0.012$  млрд лет формации Arctic Bay, но древнее, чем Re-Os возраст  $1.046 \pm 0.016$  млрд лет формации Victor Bay. В составе ископаемой микробиоты лахандинской серии Сибири (возраст 1030–1000 млн лет) установлены возможные представители гидродиктиевых зеленых водорослей (группа Archeoplastida). Здесь же обнаружены возможные спорангии базидиальных грибов (группа Opisthokonta) и оомицет (группа SAR). Наиболее древние вероятные представители Opisthokonta, похожие на базидиальных и сумчатых грибов, обнаружены в формации Wynnatt (возраст 800 млн лет) Канадского Арктического архипелага. Ископаемые организмы *Proterocladus major* и *Proterocladus minor* из формации Svanbergfjellet (возраст 750 млн лет) о. Шпицбергена напоминают сифонокладовые зеленые водоросли (группа Archeoplastida). Из этих же отложений описаны и ископаемые колониальные формы *Palaeastrum dyptocranum*, возможные представители гидродиктиевых зеленых водорослей (группа Archeoplastida). Древнейшие Amoebozoa, возможно, представлены микрофоссилиями *Palaeoarcella athanata*, *Melanocyrrillium hexodiadema* и *Hemisphaeriella ornata*, широко распространенными в отложениях неопротерозойского возраста ( $742 \pm 6$  млн лет) США. Кроме того, микрофоссилии *Melicerion roikilon* из группы Chuag неопротерозойского возраста ( $742 \pm 6$  млн лет) по ряду признаков напоминают раковинных филозных амёб, которые по молекулярным данным относятся к Rhizaria. Таким образом, палеонтологические данные свидетельствуют о том, что формирование кроны эукариот началось около 1 млрд лет назад, спустя 600 млн лет после появления последнего общего предка.

**Благодарности:** Данная работа была выполняется при поддержке гранта РФФ 17-17-01241.

## ГЕТЕРОХРОНИЯ В РАЗВИТИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОБЕГОВ РАСТЕНИЙ

Харченко В.Е.<sup>1</sup>, Щербаков Д. Ю.<sup>2</sup>, Margha Telepova-Texier<sup>3</sup>, Сигидиненко В. Е.<sup>1</sup>, Сигидиненко Л.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГОУ ЛНР «Луганский национальный аграрный университет» 91008 Луганск, Артемовский район, городок Луганского национального аграрного университета, 1.

<sup>2</sup> Лимнологический институт СО РАН, 664033 Иркутск, Улан-Баторская 3 и Иркутский государственный университет, Сухэ-Батора 5 664003 Иркутск, Россия

<sup>3</sup> Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN), Direction générale déléguée aux Musées et aux Jardins botaniques et zoologiques, Paris (France)

[viktoriakharchenko@rambler.ru](mailto:viktoriakharchenko@rambler.ru)

Эволюционные механизмы, формирующие характер расположения цветков на побегах, имеют решающее значение для репродуктивной стратегии растений. Не смотря на успехи в идентификации генов, влияющих на расположение цветков, по-прежнему остаётся много вопросов относительно путей преобразования структуры соцветий в эволюции. Генам семейства *TFL* у *A. thaliana* и их паралогам у других растений ряд авторов приписывают большое значение, поскольку их мутации влияют на переход между двумя типами соцветий, свойственными Angiospermae - определенным и неопределённым [1]. Соцветие, считают неопределённым, если его ось развивается бесконечно, и определённым, если оно образует терминальный цветок, ограничивающий развитие оси соцветия. Следует отметить, что в классической морфологии целесообразность противопоставления этих типов соцветий ставилась под сомнение, прежде всего из-за существования непрерывного спектра переходных форм между ними. У разных таксонов соотношение этих форм варьирует в широких пределах, в том числе - и в зависимости от условий среды.

Настоящая работа посвящена анализу изменчивости структуры соцветий на микро- и макроэволюционном уровнях. О характере вариаций структуры соцветий судили по времени формирования цветков и соотношениям длины осей соцветия (междоузлий и цветоножек).

Во-первых, как пример внутривидовой изменчивости соцветий, исследовали их вариацию у *Arabidopsis thaliana*, возникающую под влиянием условий среды у исходной линии *ler* и под влиянием мутаций сокращающих время перехода к цветению (*tf1-2*) и увеличивающих его *fca*, *fb*.

Во-вторых, пути преобразования соцветий на межвидовом уровне исследовали с помощью проецирования типов соцветий на филогенетическое дерево орхидей Юго-Восточной Азии. Филогенетическое дерево было построено методом максимального правдоподобия с использованием нуклеотидных последовательностей генов, опубликованных другими авторами. Использованы последовательности длинного фрагмента ядерной ДНК, перекрывающего участок кассеты рибосомных генов от малой до большой субъединицы рРНК, а так же двух фрагментов хлоропластного генома - генов *matK* и *rbcl*.

Об эволюции соцветий у орхидей судили, прослеживая типы соцветий на филогенетическом дереве методом максимальной экономии. Большой размах внутривидовой изменчивости соцветий учитывали, принимая в качестве состояния этого признака наиболее дифференцированный тип соцветия. То есть, если для некоторого вида в разных условиях (например, оранжерея, типовое местообитание и биотопы на краю ареала) соцветия могут принимать разные формы, то для картирования на филогению принималась наиболее дифференцированная из этих форм.

Наши результаты свидетельствуют о том, что как на внутривидовом, так и на межвидовом уровне тип соцветий во всех главных кладах орхидей меняется многократно и легко. Это резко отличает эволюцию структуры соцветий у растений от эволюционных преобразований плана строения у животных, обусловленных дупликациями и дивергенциями гомеозисных

генов. Следовательно, изменения типа аллометрических сдвигов, в основном гетерохронного характера в эволюции соцветий играют определяющую роль.

Используя морфометрический анализ, мы получили данные, согласующиеся с представлением о том, что эффект мутаций, изменяющих время перехода к цветению, в том числе и мутации по гену *TFL* у *Arabidopsis thaliana*, по своей природе близки к гетерохронии [2], что противоречит предположению Coen et al. [1] об эквивалентности гомеозиса и гетерохронии в развитии соцветий. Это так же свидетельствует о том, что структура соцветий не зависит от симметрии цветков, так как, в отличие от гомеозисных мутаций, гетерохронные, сводятся к количественным преобразованиям.

[1]. Coen E.S., Nugent J.M., The evolution of flowers and inflorescences. // 1994, Development, V.107, P.107-116.

[2]. Shannon S., Meeks-Wagner D.R., A Mutation in the *Arabidopsis TFL1* Gene Affects Inflorescence Meristem Development. // 1991, The Plant Cell., V.3, P.877-892.

[3]. Meeuse A.D.J. Fundamentals of phytomorphology. // 1966. The Ronald pless company. New York: 231p.

## ЗООЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА: ВЕК НАЗАД И СЕГОДНЯ

Абрамсон Н.И.

*Зоологический институт РАН, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 1199034,  
Nataliya.Abramson@zin.ru*

Сегодняшний съезд посвящен знаменательному событию – 100- лет кафедры генетики СПбГУ. Основанная Ю.А.Филипченко, первая в стране кафедра генетики, носила название генетики и экспериментальной зоологии, а ранее первый в стране курс генетики Ю.А.Филипченко читал на кафедре зоологии. Однако союз генетиков и зоологов не всегда находили взаимопонимание. Трансформация зоологии как описательной, таксон-ориентированной дисциплины с классическими традициями исследований 19-го века в современную, проблемно-ориентированную дисциплину XX века проходила очень негладко. Острейшие дискуссии относительно с взаимными нападками сторон, вплоть до открытой злобы, возникали регулярно на протяжении прошлого столетия. Яркая иллюстрация этого противостояния- реакция классических зоологов и дискуссии после выступления Бейтсона на международном Зоологическом конгрессе в 1907г., а также воспоминания зоолога Вилсона. Аналогичное противопоставление двух дисциплин возникло вновь на рубеже XX и XXI веков, вместе с широким внедрением молекулярных методов в классические исследования по филогении, систематике, экологии. Особые сложности в междисциплинарном взаимодействии возникли и вместе с революционным прорывом, связанным с технологиями секвенирования нового поколения (NGS), возникновением филогеномики, которая оперирует полногеномными наборами данных (GWAS), а их обработка требует сложных биоинформационных подходов. В то же время, сегодня уже невозможно представить серьезные исследования по систематике и филогении какого-либо таксона без привлечения молекулярно-генетических методов. Филогеномные исследования, с одной стороны, произвели невероятный прорыв в разрешении филогении многих сложнейших групп, но с другой поставили исследователей перед новыми серьезными вызовами, связанными с анализом больших наборов данных, содержащих сотни и тысячи локусов. Применение данных NGS позволило не только получить надежные филогенетические реконструкции для сложных групп, но исследовать участки генома, наиболее сильно подверженные отбору. Проведенные на различных таксонах с учетом филогенетического контекста, сопоставления геномов видов и популяций, обитающих в резко контрастных местообитаниях, позволило выявить адаптации к специфическим условиям среды, подойти к анализу их молекулярных основ, как на макротаксономическом, так и на микротаксономическом уровнях. В настоящем сообщении я хочу остановиться именно на результатах подобных исследований используя литературные и собственных данные.

Работа выполнена в рамках Государственного задания №АААА-А17-117042410167-2, при поддержке гранта РФФИ №18-04-00730 и Программы Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем и биологические ресурсы России» раздела «Генофонды живой природы и их сохранение».

## MULTIGENE PHYLOGENY SUPPORTS A SINGLE MIGRATION OF THE MACULIPENNIS GROUP OF MALARIA MOSQUITOES FROM NORTH AMERICA TO EURASIA

Sharakhova M.V.<sup>1,2</sup>, Yurchenko A.A.<sup>3</sup>, Naumenko, A.N.<sup>1</sup>, Artemov G. N.<sup>2</sup>, Kokhanenko A. A.<sup>2</sup>, Bondarenko S. M.<sup>2</sup>, Velichevskaya A. I.<sup>2</sup>, Stegnyy V. N., Sharakhov I. V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Virginia Polytechnic and State University and Fralin Life Science Institute, Blacksburg, USA,

<sup>2</sup>Laboratory of Ecology, Genetics and Environment Protection, Tomsk State, University, Tomsk, Russia; <sup>3</sup>Gustave Roussy Cancer Center, Paris, France

[msharakh@vt.edu](mailto:msharakh@vt.edu)

The Maculipennis group of malaria mosquitoes is subdivided into two North American and one Eurasian subgroups. Although previous studies considered the Nearctic subgroups as ancestral, the details of the malaria mosquitoes' migration from North America to Eurasia remains a subject of debate. To reconstruct historic relationships between the North American to Eurasian mosquitoes, we conducted a multigene phylogenetic analysis of 11 Palearctic and 2 Nearctic species based on their transcriptomes or genomes. Maximum likelihood trees were generated using 2267 orthologous genes for each autosomal arm and the X chromosome separately. The transcriptome analysis indicated a closer relationship of *An. beklemishevi* with other Palearctic members rather than with the Nearctic members of the group. Also, *An. beklemishevi* clusters more closely with *An. freeborni* that occupies the Western United States rather than with *An. quadrimaculatus*, a species from the Eastern United States. Our time-calibrated tree strongly suggests a single migration of the mosquitoes of the Maculipennis group from North America to Eurasia about 11 million years ago and their further divergence into the Asian and European clades. In addition, we constructed a rearrangement-based phylogeny using 21 genes located at a 1 Mb distance from each other on chromosome X. Positions of these genes were determined on X chromosomes of seven Palearctic species using fluorescent *in situ* hybridization. The mapping demonstrated that all species differ from each other by several fixed inversions on the X chromosome. The obtained inversion-based dendrogram supports a more basal position of *An. beklemishevi* among other Palearctic species in agreement with the molecular phylogeny. The Hybridcheck analysis demonstrated highly significant signatures of introgression events between the species. Interestingly, *An. beklemishevi* shared through putative introgression event up to 7.4 % of the genome with its sympatric relatives *An. messeae*, *An. daciae*, and *An. maculipennis*. Our analysis also indicated introgression events between *An. beklemishevi* and its Nearctic relative *An. freeborni* despite the fact of their current geographic isolation. Our study has demonstrated the high effectiveness of the genome-wide approaches for the reconstruction of evolutionary history for malaria mosquitoes.

**Acknowledgements:** The research was supported by the Russian Science Foundation grant No. 15-14-20011.

## ГИБРИДИЗАЦИЯ, КЛОНАЛЬНОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ, ПОЛИПЛОИДИЯ И СЕТЧАТОЕ ВИДООБРАЗОВАНИЕ У АМФИБИЙ

Литвинчук С.Н.<sup>1,2</sup>, Боркин Л.Я.<sup>3</sup>, Скоринов Д.В.<sup>1</sup>, Пасынкова Р.А.<sup>1</sup>, Розанов Ю.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр. 4; <sup>2</sup>Дагестанский государственный университет, Россия, Махачкала, ул. Гаджиева 43-а; <sup>3</sup>Зоологический институт РАН, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 1  
[litvinchukspartak@yandex.ru](mailto:litvinchukspartak@yandex.ru)

Гибридикация, клональное наследование, полиплоидия и сетчатое видообразование это те явления, которые длительное время привлекают особое внимание биологов. Если у растений огромное влияние этих факторов на эволюцию не вызывает сомнений, то у животных этот вопрос до сих пор остается плохо изученным. К настоящему времени накопилось достаточно много данных, подтверждающих то, что в ходе эволюции, например, позвоночных животных полная дупликация всего генома происходила как минимум дважды. Ныне среди земноводных известны 53 полиплоидных (три-додекаплоиды) вида из 15 родов и 10 семейств. Все они встречаются только среди бесхвостых амфибий (Anura). Для большинства из них доказано аллополиплоидное происхождение. В ряде случаев полиплоидные виды в своих группах даже могут преобладать. Например, среди 29 видов лягушек рода *Xenopus* 27 полиплоиды. Кроме того, полиплоидные особи (от  $3n$  до  $5n$ ) выявлены у ряда гибридогенных форм (рода *Ambystoma* и *Pelophylax*), размножение которых происходит за счет различных типов клонального наследования. Для тетра-, окта- и додекаплоидных видов характерен уход от клональности и переход к половому размножению. Среди палеарктических амфибий полиплоидия обычна в родах *Pelophylax* и *Bufo*. Кроме того, у 12 диплоидных палеарктических видов были отмечены единичные случаи спонтанной автополиплоидии. По-видимому, у земноводных она не имеет эволюционного значения. В ходе нашего исследования на примере амфибий были изучены генетические и эволюционные процессы, происходящие в ходе сетчатого видообразования. Это позволило выявить внешние и внутренние факторы, приводящие к появлению полиплоидных видов. На представителях рода *Pelophylax* нами были изучены начальные этапы сетчатого видообразования, а рода *Bufo* - заключительные. С помощью молекулярно-генетических методов, ГИС-моделирования и лабораторных скрещиваний для всех полиплоидных представителей рода *Bufo* были выявлены родительские виды, предположительное время и место их возникновения, а также условия, способствовавшие их становлению и успешной конкуренции с диплоидными родительскими видами. Концепция сетчатого видообразования, связанная с гибридизацией, клональным наследованием и полиплоидией, подтверждается для амфибий в свете наших новых данных.

## ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМА МАКРОСТОМИД: ПОЛНОГЕНОМНАЯ ДУПЛИКАЦИЯ, ДЕСТАБИЛИЗАЦИЯ И ПОСЛЕДУЮЩАЯ РЕДИПЛОИДИЗАЦИЯ ГЕНОМА

Задесенец К.С.<sup>1</sup>, Ершов Н.И.<sup>1</sup>, Рубцов Н.Б.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Российская Федерация, 630090, проспект академика Лаврентьева 10

[rubt@bionet.nsc.ru](mailto:rubt@bionet.nsc.ru)

Кариотипирование свободноживущих червей рода *Macrostomum* выявило три варианта кариотипов,  $2n=6$  и  $2n=12$  (три или шесть пар небольших метацентрических хромосом),  $2n=8-10$  (наличие дополнительных 2-4 крупных метацентриков). Все исследованные виды макростомид, имеющие асимметричные кариотипы, характеризовались высоким уровнем нестабильности кариотипа. Если нестабильность кариотипа у *Macrostomum lignano* ( $2n=8$ ) была выявлена преимущественно в лабораторных линиях, то у видов *M. janickei* ( $2n=10$ ) и *M. mirumnovet* ( $2n=9$ ) особи с аномальными кариотипами присутствовали и в природных популяциях. Аномальные кариотипы характеризовались как численными, так и структурными хромосомными перестройками. Подавляющее большинство особей с аномальными кариотипами не имели морфологических или поведенческих особенностей, но при этом были фертильны. Эти находки стимулировали проведение детального молекулярно-цитогенетического анализа, включающего создание и секвенирование микродиссекционных ДНК-библиотек, приготовление микродиссекционных ДНК-проб и локус-специфичных ДНК-проб, проведение флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

В результате проведенных исследований было показано, что *M. lignano* является скрытым тетраплоидом, возникшим в результате либо полногеномной дупликации (WGD) предкового генома, либо дупликации гибридного генома, возникшего в результате гибридизации близкородственных видов. Раунд WGD сопровождался слиянием всех хромосом предкового набора в одну крупную метацентрическую хромосому. Результаты FISH выявили наличие протяженных паралогичных районов в хромосомах *M. lignano*, а также и произошедшие в них перестройки (инверсии и делеции). Сравнительный анализ хромосом *M. lignano* и *M. janickei* показал, что последний является скрытым гексаплоидом с тетрасомией крупной хромосомы, содержащей практически весь гаплоидный геном предкового вида. Формирование генома *M. mirumnovet* происходило по сходному сценарию, но дополнительно включающему межвидовую гибридизацию, что сопровождалось более интенсивными хромосомными перестройками, формирование В-хромосом, индуцированными активным расселением и амплификацией мобильных элементов.

Изученные виды макростомид являются первыми описанными видами животных с недавней WGD генома и ранним этапом его редиплоидизации. Небольшой размер генома и простая организация кариотипа делают их идеальными объектами для изучения механизмов эволюции генома животных путем WGD.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-14-00211.

## ПАРАЛЛЕЛИЗМ И КОНВЕРГЕНЦИЯ В ЭВОЛЮЦИИ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ ПОЗВОНОЧНЫХ

Трифонов В.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева 8/2 630090; <sup>2</sup> Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 2 630090 Новосибирск

[vlad@mcb.nsc.ru](mailto:vlad@mcb.nsc.ru)

Благодаря развитию методов высокопроизводительного секвенирования и совершенствованию методов анализа геномных данных все больше новых открытия появляется в области сравнительной геномики половых хромосом и систем определения пола. Если раньше считалось, что такой важный и тонко регулируемый процесс, как половая дифференциация, должен обладать высоким консерватизмом в эволюции, то исследования на рыбах, амфибиях и рептилиях выявили высокую пластичность систем определения пола, а также механизмов его запуска. Однако наши новейшие данные предполагают, что как группы сцепления, из которых происходят половые хромосомы так и гены, участвующие в запуске пола, неслучайны, что приводит к большому количеству случаев эволюционного параллелизма. Исследование систем половых хромосом и генов-триггеров пола у новых видов позволяет по новому взглянуть на процессы происхождения и дифференциации полов и выявить общие закономерности эволюции половых хромосом.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ №18-44-04007.

## ХРОМОСОМА, СПЕЦИФИЧНАЯ ДЛЯ ЗАРОДЫШЕВОЙ ЛИНИИ, У ПЕВЧИХ ПТИЦ

Малиновская Л.П.<sup>1,2</sup>, Задесенец К.С.<sup>2</sup>, Карамышева Т.В.<sup>2</sup>, Рубцов Н.Б.<sup>1,2</sup>, Торгашева А.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 2;

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

[l.malinovskaia@g.nsu.ru](mailto:l.malinovskaia@g.nsu.ru)

К явлению запрограммированной элиминации ДНК относится неслучайная потеря части генетического материала на любой стадии клеточного цикла. Среди птиц запрограммированная элиминация большой акроцентрической хромосомы была впервые описана у зебровой и японской амадины из семейства Астрильдовые. У обоих видов в клетках зародышевой линии содержалась большая акроцентрическая хромосома (germ-line-restricted chromosome, далее GRC), которая отсутствовала в соматических тканях и элиминировалась в сперматогенезе.

Мы впервые показали, что GRC содержится в зародышевой линии у всех проанализированных 13 видов певчих птиц из 9 семейств. За пределами отряда Воробьинообразные видов с GRC обнаружено не было. Несмотря на значительную вариацию в размере, поведение GRC в мейозе у всех певчих птиц было сходным с описанным ранее поведением GRC у амадин. У самок GRC преимущественно была представлена двумя копиями, которые всегда синаптировали и рекомбинировали на стадии пахитены мейоза I. У самцов в большинстве клеток GRC содержалась в одной копии и элиминировалась после первого мейотического деления.

Для проведения сравнительного анализа состава GRC и исследования поведения этой хромосомы на разных стадиях сперматогенеза были приготовлены микродиссекционные пробы GRC зебровой амадины, чижа и бледной ласточки. Внутри- и межвидовая флюоресцентная *in situ* гибридизация с этими пробами выявила низкую степень гомологии между GRC разных видов. Кроме того, мы показали, что в состав видоспецифичных GRC входят последовательности, гомологичные разным участкам основного генома.

Результаты нашей работы доказывают, что GRC широко распространена среди певчих птиц и, вероятно, возникла у их общего предка более 40 млн. лет назад. Эволюционные изменения привели к утрате гомологии между GRC разных видов и накоплению последовательностей, гомологичных разным участкам основного генома.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ (№ 17-29-08019, 18-04-00924).

## ВОЗНИКНОВЕНИЕ ВИРУСОВ И ЭВОЛЮЦИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИРУСОВ И КЛЕТОК

Ким А.И., Нефедова Л.Н.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,  
биологический факультет, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12  
[aikim18@mail.ru](mailto:aikim18@mail.ru)

Вирусы - самая многочисленная и генетически разнообразная форма жизни, нашедшая способы взаимодействия с любыми организмами, имеющими клеточное строение. Длительное совместное существование клеточных организмов и паразитирующих на них вирусов является следствием возникновения и эволюции разнообразных стратегий защиты клеток от вирусной инфекции и контрстратегий вирусов, позволяющих избегать клеточной защиты. Рассматривается происхождение вирусов, один из нерешенных вопросов биологии [1]. Регрессивная гипотеза предполагает, что предки вирусов изначально были мелкими клеточными формами, паразитирующими на крупных клетках. Затем в ходе длительной эволюции они деградировали и утратили способность размножаться вне клетки, став вирусами. Гипотеза клеточного происхождения объясняет появление вирусов из фрагментов ДНК и РНК геномов хозяев. В качестве источников образования вирусов можно рассматривать плазмиды или мобильные генетические элементы, разнообразие форм последних позволяет установить филогенетические отношения между ними и выстроить логическую цепочку “сборки” вируса в процессе эволюции мобильных элементов [2]. Мобильные элементы, присутствующие в геномах всех клеточных организмов, и вирусы, несомненно, находятся в тесном родстве. По строению и механизму репликации некоторые из мобильных элементов эукариот, такие как ретротранспозоны с длинными концевыми повторами, практически неотличимы от ретровирусов, интегрированных в хозяйский геном. Тем не менее, понять, какие структуры возникли в ходе эволюции раньше – мобильные элементы или вирусы – на сегодняшний день не представляется возможным. Гипотеза коэволюции предполагает, что вирусы и клеточные организмы или возникли одновременно, или же сосуществуют уже не менее полумиллиарда лет [3]. Ее поддерживает факт существование других неклеточных форм жизни, например, вироидов, молекул РНК, которые не рассматриваются как вирусы, так как не имеют белковой оболочки. Кроме того, у ряда организмов обнаружены так называемые вирусы-сателлиты, способность к репликации которых зависит от присутствия в клетке других вирусов. Примерами могут служить вирус гепатита D или амебные вирофаги. Рассматриваются механизмы врожденной защиты клеток от вирусов (кофакторы и ингибиторы вирусной инфекции, системы врожденного иммунитета) и вирусные контрстратегии (реассоциация сегментированных геномов, молекулярная доместикация новых генов, дублирование, захват хозяйских генов).

[1]. *Malik H.S., Henikoff S., Eickbush T.H.* Poised for contagion: evolutionary origins of the infectious abilities of invertebrate retroviruses // 2000, *Genome Res.*, V. 10 (9), P. 1307–1318.

[2]. Нефедова Л.Н., Ким А.И. Эволюция взаимодействия вируса с клеткой // 2017, *Успехи современной биологии*, Т. 137 (6), С. 531-540.

[3]. *Koonin E.V., Dolja V.V., Krupovic M.* Origins and evolution of viruses of eukaryotes: the ultimate modularity // 2015, *Virology*, V. 479–48., P. 2–25.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-04-01250

## ГОМЕОБОКСНЫЕ ГЕНЫ НА РЕГУЛЯТОРНОМ ПЕРЕКРЁСТКЕ: ЧТО ИЗ НОВОГО – ХОРОШО ЗАБЫТОЕ СТАРОЕ?

Остен В.Г., Кулакова М.А.

СПбГУ, Россия, Санкт-Петербург, Ораниенбаумское шоссе, 2

vova00896@mail.ru

Гомеобокс-содержащие гены из суперкласса ANTP (кластерные Нох-гены, ParaНох-гены, НК-гены) контролируют осевую регионализацию зачатков тела и определяют план организации современных Bilateria. Эволюционный этап, на котором возникла координированная транскрипция этих кластеров и способ, при помощи которого это осуществлялось, отсылает нас к старой дискуссии об уровне организации последнего общего предка билатеральных животных. Эти гены имеют очень сложную транскрипционную регуляцию. В случае позвоночных животных, она реализуется за счёт совместной работы нескольких сигнальных путей, важнейшие из которых – Wnt, RA и FGF. Насекомые (*Drosophila*, *Tribolium*) не используют сигнальный путь RA (Retinoic acid) для контроля транскрипции гомеобоксных генов, и многие важные компоненты этого пути отсутствуют в их геномах. Основной способ контроля над генами ANTP у членистоногих и нематод осуществляется за счёт специфичных транскрипционных факторов, самые изученные из которых – Gap-гены *Drosophila*. Чтобы разобраться в том, какой тип регуляторных отношений существовал исходно, а какой возник *de novo* в отдельных линиях Bilateria, необходимы новые модельные животные. Одна из перспективных моделей – полихета *Platynereis dumerilii*. Известно, что в геноме этой полихеты присутствуют все основные гены, кодирующие элементы сигнальных путей Wnt и RA. При помощи фармакологических модуляторов, которые усиливают или прерывают сигнальные пути на разных этапах трансдукции, мы проанализировали паттерны транскрипции Нох- и ParaНох-генов у *P. dumerilii*. Кроме того, мы исследовали влияние одного сигнального пути (RA) на транскрипцию компонентов другого (Wnt) для того, чтобы сравнить полученную картину с уже известной для ортологичных генов позвоночных. Мы обнаружили, что у личинки полихеты транскрипционные границы Нох-генов не смещаются при воздействии экзогенной ретиноевой кислоты или её ингибиторов, что хорошо согласуется с недавно опубликованными данными [1], однако в период постларвального роста Pdu Нох-гены и ParaНох-ген *PduCad* становятся чувствительны к модуляции Wnt- и RA-сигналинга. Наши данные указывают на достоверную разницу между способами регуляции одних и тех же генов на двух этапах онтогенеза полихеты, что может свидетельствовать о сочетании двух принципов регуляции у последнего общего предка первичноротых и вторичноротых животных, и дальнейшей независимой эволюцией этих путей с утратой отдельных компонентов в разных таксонах.

[1]. Handberg-Thorsager M. et al., The ancestral retinoic acid receptor was a low-affinity sensor triggering neuronal differentiation. // 2018, Sci. Adv., V.4, P.1-16.

Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ 18-04-00450 а и 14-04-01531 а

## НЕСТАЦИОНАРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ САЙТОВ

Базыкин Г.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Сколковский институт науки и технологий, Москва, 143026, Россия,

<sup>2</sup>Институт проблем передачи информации им. А.А.Харкевича, Москва, 127057, Россия

[g.bazykin@skoltech.ru](mailto:g.bazykin@skoltech.ru)

Аминокислота, предпочитаемая в некоторой позиции определённого вида в одном виде, может быть вредной гомологичной позиции того же белка в другом виде. Предпочтения могут изменяться в ходе эволюции аминокислотных позиций, но причины этих изменений не вполне ясны. Во-первых, они могут вызываться изменениями в других точках генома, вовлечённых во взаимодействия с рассматриваемой позицией; во-вторых – изменениями среды, внешними по отношению к геному. С помощью аналитического и численного моделирования мы показали, что эти процессы должны в среднем приводить к разной динамике приспособленности текущего варианта в данной позиции: росту – для изменений, вызванных эволюцией взаимодействующих сайтов, и падением – для изменений, вызванных изменением условий среды. Чтобы определить направление этой динамики в эволюции белков, мы разработали вычислительный метод анализа распределения замен в отдельных аминокислотных сайтах по филогении. Применяв этот метод к заменам в ядерных геномах позвоночных животных, мы показали, что среди позиций, обладающих наивысшей консервативностью, т.е. испытывающих сильный отрицательный отбор, почти во всех приспособленность текущего аллеля растёт со временем. Напротив, в большинстве сайтов, испытывающих положительный отбор, приспособленность текущего аллеля падает со временем. Аналогичные результаты были получены на филогениях насекомых, а также на митохондриальном геноме Metazoa. Понижение приспособленности текущего аллеля со временем, как и повышение скорости эволюции, является проявлением положительного отбора.

## REPETITIVE DNA IN THE ARCHITECTURE AND EVOLUTION OF THE PLANT GENOME: FROM A SINGLE CELL TO INTRASPECIFIC DIVERSITY AND SPECIATION

Raskina O.M.

*Institute of Evolution, University of Haifa, Aba-Hushi Avenue 199, Haifa 3498838, Israel  
olga@evo.haifa.ac.il*

The genome's adaptability to environmental changes, especially during rapid climatic fluctuations, underlies the existence and evolution of species. In the wild, genetic and epigenetic genomic changes are accompanied by significant adjustments in the complex nuclear repetitive DNA fraction. The largest portion of wild *Aegilops/Triticum* (Poaceae, Triticeae) genomes comprises various types of transposable elements (TEs) and tandem repeats (TRs), which form the main fraction of heterochromatin and demonstrate nonrandom and sequence-specific chromosomal patterning. In the ontogenesis of individual plants of *Aegilops speltoides* Tausch, tissue-specific TE and TR copy number fluctuations demonstrate large-scale parallelism with extensive chromosomal rearrangements, which typically result from erroneous DNA repair and recombination. In plants, genetic changes and structural DNA alterations occurring in somatic lineages that produce gametes in late ontogenesis could be directly transmitted to the progeny. The various cell-specific chromosomal rearrangements in microgametogenesis might reflect DNA lesions that previously arose in premeiotic somatic cells and/or resulted from erroneous recombination in meiotic prophase I. As can be seen from chromatin dynamics in the somatic interphase, homologous chromosomes are separated in nuclear space, and nonhomologous chromosomes are often involved in spontaneous ectopic recombination. Seemingly, significant number of nonhomologous chromosomal associations in gametogenesis are the consequences of cell-specific ectopic recombination events that occurred in premeiotic cell lineages. Repetitive elements are the hotspots for illegitimate recombination, provoking somatic and meiotic chromosome aberrations that lead to genome instability. However, repetitive DNAs—primarily TEs—could serve as the overabundant and ubiquitous templates for nonhomologous DNA repair that could prevent the appearance of numerous deleterious DNA lesions, especially in the cases of critical double-strand breaks, when allelic DNA is unavailable. Thus, repetitive elements perform a dual function in the genome as the main structural fraction of chromatin, and at the same time, a platform for chromosome/genome restructuring under the influence of a variety of internal and external factors; and meaningful changes in the abundance and sequence-specific genomic pattern of repetitive DNA underlie intraspecific diversification and genome evolution in nature.

## ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ И ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗАВИСЯТ ОТ ГЕНОТИПА ЕЕ ЭНДОСИМБИОНТА *WOLBACHIA PIPIENTIS*

Груntenко Н.Е., Адоньева Н.В., Андреевкова О.В., Бурдина Е.В., Быков Р.А.,  
Илинский Ю.Ю., Раушенбах И.Ю.

ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-т акад. Лавреньева, 10  
[nataly@bionet.nsc.ru](mailto:nataly@bionet.nsc.ru)

Одним из самых распространенных прокариотических симбионтов беспозвоночных является внутриклеточная бактерия *Wolbachia pipientis*, встречающаяся более чем у половины видов насекомых. Существует ряд свидетельств о способности *Wolbachia* повышать приспособленность вида-хозяина, в частности, увеличивая его устойчивость к вирусным инфекциям. Однако молекулярно-генетические и физиологические механизмы такого влияния, как и взаимодействия *Wolbachia*-хозяин в целом, остаются малоизученными. Данная работа посвящена изучению эндокринологических аспектов механизма поддержания симбиоза между *Wolbachia* и модельным видом *Drosophila melanogaster*. Создана модель, состоящая из пяти конпластических линий дрозофилы, несущих ядерный фон линии дикого типа Bi90 и цитоплазматический фон с различными вариантами генотипа *Wolbachia*. Исследовано влияние генотипов *Wolbachia* wMel, wMel2, wMel4, wMelCS и патогенного штамма wMelPop на приспособленность и метаболизм ряда гормонов у самок *D. melanogaster*. В качестве контрольной группы использована линия Bi90, обработанная тетрациклином в течение 3 поколений. Обнаружено, что только два из пяти исследованных вариантов *Wolbachia* вызывают изменения в приспособленности и метаболизме организма хозяина. *Wolbachia* генотипов wMel, wMel2 и wMel4 не оказывают влияния на стрессоустойчивость, плодовитость и метаболизм октопамина, дофамина и ювенильного гормона у *Drosophila*, тогда как wMelCS и wMelPop *Wolbachia* изменяют эти признаки, причем прямо противоположным образом. Так, wMelCS снижает интенсивность метаболизма октопамина и уровень плодовитости в первые дни после начала откладки яиц, а wMelPop повышает их. В то же время wMelCS повышает плодовитость начиная с 6 дня после начала откладки яиц, стрессоустойчивость и интенсивность метаболизма дофамина, а wMelPop снижает их. Показано также, что влияние wMelCS и wMelPop *Wolbachia* на плодовитость насекомых-хозяев опосредуется ювенильным гормоном. Причины повышения приспособленности мух, инфицированных *Wolbachia* генотипа wMelCS, по сравнению с мухами, инфицированными *Wolbachia* генотипов группы wMel, требует дальнейшего изучения, поскольку не позволяет объяснить значительное преобладание последних по сравнению с особями, зараженными wMelCS, в природных популяциях во всем мире. Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ 16-04-00060 и 19-04-00431.

## THE DIVERSITY OF HEAT SHOCK PROTEIN (HSP) 70 TRANSCRIPTS IN LAKE BAIKAL ENDEMIC AMPHIPODS

Drozdova P.B.<sup>1,#</sup>, Bedulina D.S.<sup>1,2,#</sup>, Madyarova E.V.<sup>1</sup>, Rivarola-Duarte L.<sup>3-5,12</sup>, Schreiber S.<sup>6</sup>, Stadler P.F.<sup>3,4,7-11</sup>, Luckenbach T.<sup>3</sup>, Timofeyev M.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Biology, Irkutsk State University, Irkutsk, Russia; <sup>2</sup> Baikal Research Centre, Irkutsk, Russia; <sup>3</sup> Department of Bioanalytical Ecotoxicology, UFZ – Helmholtz Centre for Environmental Research, Leipzig, Germany; <sup>4</sup> Interdisciplinary Center for Bioinformatics, University Leipzig, Leipzig, Germany; <sup>5</sup> Bioinformatics Group, Department of Computer Science, Leipzig University, Leipzig, Germany; <sup>6</sup> Young Investigators Group Bioinformatics and Transcriptomics, UFZ – Helmholtz; Centre for Environmental Research, Leipzig, Germany; <sup>7</sup> LIFE-Leipzig Research Center for Civilization Diseases and Competence Center for Scalable Data Services and Solutions, University Leipzig, Leipzig, Germany; <sup>8</sup> Institute for Theoretical Chemistry, University of Vienna, Wien, Austria; <sup>9</sup> Center for non-coding RNA in Technology and Health, University of Copenhagen, Frederiksberg C, Denmark; <sup>10</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Colombia; <sup>11</sup> Santa Fe Institute, Santa Fe, NM, USA; <sup>12</sup> Current Address: Plant Genome and Systems Biology, Helmholtz Zentrum München, Neuherberg, Germany.

# contributed equally to this work

[drozdovapb@gmail.com](mailto:drozdovapb@gmail.com)

The *hsp/hsc70* (heat shock protein/cognate 70 kDa) gene family encodes molecular chaperones. The *hsc70* genes are expressed under non-stress conditions to ensure proper protein folding, while the expression of *hsp70* genes is induced by heat shock to alleviate the proteotoxic effect. The *hsp70*s are generally characterized by the presence of heat shock elements in their promoter and absence of introns, but this rule has many exceptions. It is even harder to tell between *hsp70* and *hsc70* genes based on RNA sequencing data, while transcriptome assemblies for non-model species are easier to obtain than the genome assemblies.

Endemic Lake Baikal amphipods are adapted to low temperatures (mean annual temperature of the Lake Baikal littoral zone is 6 °C); many species reproduce in winter and are active at cold temperatures. However, the global warming subjects them to higher temperatures, and thus investigation of their heat shock response is of particular interest. For this study we chose two species abundant in the Baikal littoral zone, namely the winter-reproducing cold-loving *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstfeldt, 1858) and the summer-reproducing and more thermotolerant *E. cyaneus* (Dybowsky, 1874). In previous studies, we had shown only slight (up to two-fold) up-regulation of the *hsp/hsc70* expression in response to elevated temperature in these two species using both qPCR and Northern hybridization.

In this work we employed next-generation transcriptome sequencing and differential expression analysis and found *hsp70* transcripts that are expressed at negligibly low levels under control (non-stressed) conditions, but up-regulated up to 1900-fold under heat shock. Moreover, further detailed investigation of the Hsp/Hsc70 sequence available for amphipods allowed us to find similar sequences in many other species and suggests that the *hsp/hsc70* gene family within the order Amphipoda diversified into cognate and heat-inducible paralogs independently from other crustaceans. Finally, we proposed sequence features to diagnose the heat-inducible form for the order Amphipoda. These results can be instrumental in functional profiling of *hsc/hsp70*s in different non-model organisms and development of sequence-based biomonitoring assays.

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Science Foundation / Helmholtz Association of German Research Centres (project 18-44-06201) and the President of the Russian Federation (project MK-6804.2018.4).

## САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКАЯ ШКОЛА ЭВОЛЮЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ: РАЗВИТИЕ СИНТЕТИЧЕСКОЙ ТЕОРИИ ЭВОЛЮЦИИ И ЗАРОЖДЕНИЕ СИМБИОГЕНЕТИКИ

Проворов Н.А.<sup>1</sup>, Андронов Е.Е.<sup>1,2,3</sup>, Тихонович И.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Россия, С.-Петербург, 196608, ш. Подбельского, д. 3. <sup>2</sup>С.-Петербургский госуниверситет, Россия, С.-Петербург, 199034, Университетская наб., д. 7/9. <sup>3</sup>Почвенный институт имени В. В. Докучаева, Москва 119017, Пыжевский пер., д. 7 стр. 2.

[provorovnik@yandex.ru](mailto:provorovnik@yandex.ru)

Важнейшим итогом развития Петроградской-Ленинградской-Санкт-Петербургской генетической школы явилось создание оригинальных направлений эволюционной генетики. Они существенно расширили синтетическую теорию эволюции и предопределили возникновение экологической генетики и симбиогенетики как новых направлений науки об изменчивости и наследственности. Ю.А. Филипченко [1], разделив макро- и микроэволюционные процессы, отметил существенное различие их генетических механизмов. Это различие подтвердилось при изучении моделей симбиогенетики, которая возникла в форме теории “симбиогенезиса”, предложенной выпускником С.-Петербургского университета К.С. Мережковским [2]. Ее развитие с использованием модельных азотфиксирующих микробно-растительных систем показало, что видообразование и макроэволюция у симбиотических бактерий по своим механизмам существенно отличаются от внутривидовой диверсификации. Так, для клубеньковых бактерий (ризобий) характерно аллопатрическое образование видов и надвидовых таксонов, определяемое их совместным с растениями продвижением в новые эколого-географические зоны, которое сопровождается переносом *сут*-генов из штаммов-интродуцентов в аборигенные бактерии. Мы показали, что для видов *Rhizobium leguminosarum* и *Neorhizobium galegae* – симбионтов бобовых растений галегоидного комплекса – характерна симпатрическая дивергенция, приводящая к возникновению внутривидовых таксонов (биотипов, симбиотипов). Она основана на преобразованиях акцессорных частей генома и происходит под действием индуцируемого растениями дизруптивного отбора [3]. Однако в локальных популяциях *R. leguminosarum* может происходить и образование геномных (криптических) видов, которое связано с изменениями коровых частей генома и, по-видимому, происходит под действием частотно-зависимого отбора, индуцируемого при переходе бактерий из почвы в клубеньковые ниши. С использованием уникальной генетической модели, состоящей из реликтового бобового *Vavilovia formosa* и его микросимбионтов, мы показали, что базовые закономерности макроэволюции ризобий (формирование систем симбиоза путем “приобретения и утраты генов”, повышение компактности расположения *сут*-генов в геноме) характерны и для микроэволюции этих бактерий.

[1] Filipcenko J., Variabilität und Variation // 1927. Berlin: Bornträger.

[2] Мережковский К.С., Теория двух плазм как основа симбиогенезиса, нового учения о происхождении организмов // 1909. Казань: Типогр. Импер. ун-та, 102 с.

[3] Проворов Н.А., Андронов Е.Е. Эволюция клубеньковых бактерий: реконструкция процессов видообразования, обусловленных перестройками генома в системе симбиоза // 2016. Микробиология, Т. 85, № 2, С. 195-206.

**Симпозиум VIII: Структурная и функциональная протеомика / Symposium VIII: Structural and Functional Proteomics****STRUCTURE DETERMINATION OF NEURODEGENERATIVE MISFOLDED PROTEIN AGGREGATES BY SHORT-DISTANCE CROSSLINKING CONSTRAINT-GUIDED DISCRETE MOLECULAR DYNAMICS (CL-DMD).**

Petrotchenko E. V<sup>1</sup>., Serpa J. J<sup>2</sup>., Popov K. I<sup>3</sup>., Dokholyan N. V<sup>4</sup>., Borchers C. H.<sup>1,2,5,6</sup>

<sup>1</sup>*Proteomics Centre, Segal Cancer Centre, Lady Davis Institute, Jewish General Hospital, McGill University, Quebec, Canada* <sup>2</sup>*University of Victoria – Genome British Columbia Proteomics Centre, University of Victoria, Victoria, BC, Canada* <sup>3</sup>*Department of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina, Chapel Hill, NC, USA* <sup>4</sup>*Departments of Pharmacology, and Biochemistry and Molecular Biology, Pennsylvania State College of Medicine, Hershey, PA, USA* <sup>5</sup>*Department of Biochemistry and Microbiology, University of Victoria, Victoria, BC, Canada* <sup>6</sup>*Gerald Bronfman Department of Oncology, Jewish General Hospital, McGill University, Montreal, Quebec, Canada*

Protein misfolding and aggregation leading to the formation of cell-toxic protein oligomers is a central element in the pathogenesis of neurodegenerative diseases, such as prion, Parkinson's and Alzheimer's diseases. The conformational changes involved in misfolding and the formation of the aggregates are difficult to study by traditional structural-biology methods and protein structural modeling. We have recently developed short-distance constraint-guided discrete molecular dynamics (CL-DMD) for de novo protein structure determination [PMID:28695211] and have applied it to the characterization of native  $\alpha$ -synuclein and tau conformational ensembles in solution. Here, using the example of prion protein, we describe the further development of CL-DMD in combination with <sup>14</sup>N/<sup>15</sup>N metabolic labeling for the structure determination of multimeric assemblies of misfolded proteins involved in neurodegenerative diseases.

## ABSOLUTE QUANTIFICATION OF METABOLIC AND SIGNALING PATHWAYS

Shevchenko A.

*MPI of Molecular Cell Biology and Genetics, 01307 Dresden, Germany*

Metabolic pathways have been studied in great detail in a variety of cellular and organismal models. However, surprisingly little is known about actual concentrations of key metabolic enzymes and their molar ratios to other proteins, including members of the same or different pathways associated in a global metabolic network. Since metabolism kinetics is controlled by enzyme concentrations, this is critical for quantitative understanding of the metabolism regulation and metabolic transitions between different physiological states.

We employed a method of MS Western<sup>1</sup> to quantify absolute (molar) abundances of 53 metabolic enzymes spanning glycolysis, gluconeogenesis, TCA and glyoxylate shunt in two larval stages of *Caenorhabditis elegans*. Each protein was independently quantified with 2 to 4 quantotypic peptides providing highly concordant determinations of molar abundances of endogenous proteins with no recourse to specific antibodies or indirect inference from gene expression profiles. MS Western quantified absolute (molar) abundances of metabolic enzymes with CV<10%, estimated their molar “per animal volume” concentrations and accurately determined stoichiometric ratios between individual enzymes. Direct proteomics quantification suggested that precisely controlled stoichiometric ratios of enzymes at branching points of a metabolic network (rather than their expression levels) is a key factor driving environment-dependent metabolic transitions from respiration to carbohydrate synthesis.

We further speculate that consistent and accurate antibodies-independent absolute (molar) quantification could be expanded to proteome-wide scale thus having direct implications on the molecular diagnostics of common metabolic diseases.

Reference:

[1] Kumar, M., Joseph, S.R., Augsburg, M., Bogdanova, A., Drechsel, D., Vastenhouw, N.L., Buchholz, F., Gentzel, M., and Shevchenko, A. (2018). MS Western, a method of multiplexed absolute protein quantification is a practical alternative to Western blotting. *Mol Cell Proteomics* 17, 384-396.

## MOLECULAR DESIGN FOR RESEARCH AND THERAPEUTICS

Dokholyan N.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Pharmacology, Department of Biochemistry & Molecular Biology*

*Penn State College of Medicine, Hershey, PA 17033 USA*

[dokh@psu.edu](mailto:dokh@psu.edu)

Life of biological molecules spans time and length scales relevant at atomic to cellular time and length scales. Hence, novel molecular modeling approaches are required to be inherently multiscale. Here we describe multiple methodologies developed in our laboratory: rapid discrete molecular dynamics simulation algorithm, protein design and structural refinement tools. Using these methodologies, we describe several applications that shed light on the molecular etiology of cystic fibrosis and finding new pharmaceutical strategies to combat this disease, model 3D RNA structure, and design novel approaches for controlling proteins in living cells and organisms.

## ПРОТЕОГЕНОМИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ - ИДЕНТИФИКАЦИЯ МУТАНТНЫХ БЕЛКОВ В МАСШТАБЕ ПРОТЕОМА

Мошковский С.А.<sup>1,2</sup>, Кузнецова К.Г.<sup>2</sup>, Лобас А.А.<sup>3</sup>, Иванов М.В.<sup>3</sup>, Ключникова А.А.<sup>1,2</sup>,  
Згода В.Г.<sup>2</sup>, Горшков М.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Россия, Москва, ул. Островитянова, д.1; <sup>2</sup>ИБМХ, Россия,  
Москва, ул. Погодинская, д.10; <sup>3</sup>ИНЭПХФ РАН им. В.Л. Тальрозе, Россия, Москва, Ленинский  
пр-т, д. 38, к.2

[smosh@mail.ru](mailto:smosh@mail.ru)

Наиболее распространенным вариантом протеомного анализа при помощи масс-спектрометрии остается поиск соответствия масс-спектров теоретическим аминокислотным последовательностям, предсказанным из последовательности генома исследуемого организма. Геном большинства злокачественных опухолей человека, как стало известно в последнее десятилетие, отличается от герминального генома большим количеством соматических мутаций, среди которых многие кодируют аминокислотные замены. Соответственно, при протеомном поиске в материале злокачественных клеток нужно учитывать возможные изменения аминокислотной последовательности, чтобы не пропустить значимые с точки зрения патогенеза опухоли явления. Подход, учитывающий особенности геномов и транскриптомов конкретных биологических образцов, получил название протеогеномики. В докладе подводятся итоги работы по протеогеномике злокачественных клеток, проводимых нами в течение последних пяти лет. Исследованы полученные из открытых источников протеомы клеточных линий панели NCI-60 [1]. Проведено протеогеномное исследование эмбриональной клеточной линии надпочечника HEK-293 [2]. Получены протеомы линий злокачественной меланомы кожи [3]. Выработаны методы оценки уровня ложноположительных результатов для идентификации отдельных мутантных участков белка. Показано, что у мутантных последовательностей шансы быть обнаруженными на белковом уровне в несколько раз ниже, чем у неизмененных последовательностей. Панорамная протеомика с масс-спектрометрией высокого разрешения, как было установлено, способна валидировать результаты геномного анализа при поиске участков полиморфизма.

[1] Karpova M.A., et al, Exome-driven characterization of the cancer cell lines at the proteome level: the NCI-60 case study // 2014, J. Proteome Res., V.13, P.5551-5560.

[2] Lobas A.A., et al, Exome-based proteogenomics of HEK-293 human cell line: coding genomic variants identified at the level of shotgun proteome // 2016, Proteomics, V.16, P.1980-1991.

[3] Lobas A.A., et al, Proteogenomics of Malignant Melanoma Cell Lines: The Effect of Stringency of Exome Data Filtering on Variant Peptide Identification in Shotgun Proteomics // 2018, J. Proteome Res., V.16, P.1801-1811.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №17-15-01229.

## ПРОТЕОМИКА АНТИТЕЛ

Вавилов Н.Э., Скворцов В.С. Згода В.Г.

НИИ Биомедицинской химии им. Ореховича, Москва, Погодинская ул. 10, 119121

Несмотря на то, что антитела пристально изучаются уже более 100 лет немного известно о клональности, первичной структуре переменных доменов, концентрациях и связывающих свойствах моноклональных антител, которые составляют антигенспецифический пул иммуноглобулинов сыворотки крови.

Мощный методический потенциал протеомики мог бы стать хорошим подходом в изучении этого класса белков, однако, анализ литературы за последние 10 лет показывает лишь единичные работы в этой области. Связано это с тем, что необходимым условием идентификации белков анализируемого образца является знание аминокислотных последовательностей белков. Применительно к антителам, для переменных доменов которых в большинстве случаев аминокислотные последовательности неизвестны, протеомика остается бессильной. Очевидным решением может стать NGS-секвенирование нуклеотидных последовательностей тяжёлых и лёгких цепей антител в пуле выделенных В-клеток костного мозга и селезёнки. Последующее создание базы данных на основе NGS секвенирования и протеомный анализ сыворотки крови позволяет идентифицировать последовательности переменных доменов тяжёлых и лёгких цепей, циркулирующих антигенспецифических IgG. Понятно, что подобные опыты с выделением В-клеток не просты, дороги и возможны на экспериментальных животных, но для исследования гуморального иммунного ответа человека данная методика не подходит.

Другим подходом может служить метод секвенирования аминокислотной последовательности *de novo*. Однако, в литературе показаны лишь единичные примеры *de novo* секвенирования белков с использованием масс-спектрометрических подходов. В настоящей работе представлены все аспекты масс-спектрометрического анализа антител с неизвестной структурой переменных доменов антител, рассмотрены возможности классического *bottom up* протеомного подхода, приведены протоколы и результаты масс-спектрометрического измерения целых молекул. Также представлен новый подход определения первичных структур белков, основанный на подходах деградации белка по Эдману в сочетании с масс-спектрометрическим *de novo* секвенированием.

## ПОИСК НОВЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ С ПОМОЩЬЮ МАТЕМАТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРА

Фисунов Г.Ю.

Бактерии класса Молликут и, в частности, микоплазмы являются хорошей моделью для изучения минимальной клетки в силу значительной редукции генома. Консервативные системы регуляции экспрессии генов у микоплазм также подверглись почти полной редукции, что было продемонстрировано как методами сравнительной геномики, так и на сериях пертурбационных моделей методами транскриптомики и протеомики. В то же время попытка синтеза искусственного генома, предпринятая Крейгом Вентером и соавторами показала, что геном микоплазмы содержит более сотни генов, функция которых неизвестна, но удаление которых делает клетку нежизнеспособной. В настоящей работе мы применили комбинацию технологии высокопроизводительного картирования и квантификации промоторов, генной инженерии, машинного обучения и протеомики, чтобы показать, что микоплазмы обладают значительным репертуаром систем регуляции экспрессии генов. Был обнаружен ряд новых регуляторов экспрессии генов, в том числе рибопереключател и транскрипционные факторы. При этом значительная часть этих систем связана не с ответом на внешние пертурбации, а поддержанием стехиометрии состава протеома домашнего хозяйства.

## ОМИКСНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В РАСШИФРОВКЕ УСПЕШНОСТИ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS BEIJING B0/W148 КЛАСТЕРА

Шитиков Е.А., Беспярых Ю.А., Гуляев А.С., Ильина Е.Н., Говорун В.М.

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства», Россия, Москва, ул. Малая Пироговская, д1а.

[eshitikov@mail.ru](mailto:eshitikov@mail.ru)

На сегодняшний день среди микобактерий туберкулеза (МБТ) генетическое семейство Beijing является наиболее распространенным и характеризуется повышенной трансмиссивностью и лекарственной устойчивостью. Четверть всех штаммов семейства Beijing, циркулирующих на территории России, относится к кластеру Beijing B0/W148. Целью настоящего исследования было описать особенности эндемичных штаммов данного кластера на геномном, транскриптомном и протеомном уровнях.

В исследование было включено 20 штаммов МБТ кластера Beijing B0/W148 и референсный штамм H37Rv. Полногеномное секвенирование (N=21) и транскриптомный анализ (N=2) проводили с использованием секвенатора Illumina HiSeq 2500. Также в работе были использованы результаты полногеномного секвенирования 1500 штаммов генотипа Beijing. Безметочное протеомное профилирование (N=20) проводили с использованием ABSciex TripleTOF 5600.

В ходе филогенетического анализа была установлена ограниченная генетическая вариабельность представителей кластера (среднее попарное расстояние  $28 \pm 10$  SNPs). Дополнительно было описано 59 кластер-специфических SNPs, которые могут отчасти объяснить “успешность” и использованы для мониторинга. Полногеномное выравнивание RUS\_B0 (CP030093.1) и H37Rv показало наличие двух крупных хромосомных перестроек в Beijing B0/W148. Инвертированные участки затрагивали 559 т.п.о. и 339 т.п.о.

Согласно данным протеомного анализа было идентифицировано 1868 белков Beijing B0/W148 и 1560 для H37Rv. Сравнительный количественный анализ показал статистически значимое различие между штаммами кластера и H37Rv в представленности 192 белков. Функциональный анализ показал различия в представленности белков липидного обмена и белках, участвующих в ответе на гипоксию, что подтвердилось результатами транскриптомного анализа. Найденные особенности позволяют сделать предложение о лучшей адаптации штаммов кластера к выживанию в макрофагах.

Проведенный протеогеномный анализ позволил уточнить структурную организацию генома представителей кластера Beijing B0/W148: подтвердить наличие RvD1 и RvD5 и показать отсутствие RD105, RD149, RD152, RD181 и RD207. Также в ходе анализа были идентифицированы пептиды для 10 псевдогенов (больше двух пептидов на каждый ген). Дополнительно были скорректированы аннотированные старты для 27 генов. Были идентифицированы 2 новые открытые рамки считывания, в которых присутствует 2 и более уникальных пептида.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 17-15-01412

## ПРОТЕОМ СЕКРЕТА КЛЕТОК СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ ТРЕХ ВИДОВ МЕДИЦИНСКИХ ПИЯВОК

Лазарев В.Н.

Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА России,  
Российская Федерация, г.Москва, 119435, ул.Малая Пироговская, д.1а

[lazarev@rcrcm.org](mailto:lazarev@rcrcm.org)

На протяжении нескольких тысяч лет человечество использует кровососущих пиявок для лечения различных заболеваний. Компоненты слюны пиявки уменьшают воспаление, обладают тромболитическим, обезболивающим и антикоагуляционным действием, имеют антимикробную активность. Несомненно, медицинскую пиявку можно назвать природной фармакопеей, написанной в ходе эволюции.

Несмотря на огромный интерес к исследованию компонентного состава слюны медицинской пиявки, данные по протеому слюны пиявки в настоящее время малочисленны и фрагментарны. Мы провели полное транскриптомное профилирование слюнных желез, протеомный и пептидомный анализ слюны трех видов медицинских пиявок (*Hirudo medicinalis*, *H. verbana*, *H. orientalis*).

Нами был разработан протокол сбора секрета клеток слюнных желез медицинских пиявок, а также протокол лазерной микродиссекции клеток слюнных желез пиявки. После выделения суммарной РНК из клеток слюнных желез и мышечных клеток в качестве референсного образца от пиявок, голодающих в течение четырех месяцев, были сконструированы нормализованные кДНК библиотеки. С использованием платформы Ion Torrent PGM для каждой библиотеки было получено более 1 млн. прочтений и проведен биоинформационный анализ. Далее был проведен протеомный и пептидомный анализ слюны медицинских пиявок трех видов с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с тандемной масс-спектрометрией.

Таким образом, нами впервые выполнено полное транскриптомное профилирование клеток слюнных желез, а также протеомный и пептидомный анализ слюны медицинских пиявок *Hirudo medicinalis*, *H. verbana*, *H. orientalis*. В результате анализа были идентифицированы новые пептиды и белки, обладающие потенциальным тромболитическим, антикоагуляционным и антимикробным действием [1].

[1]. Babenko V. et. al., Far beyond common leeching: insights into an ancient medical device through integrated omics data // 2018, bioRxiv, doi: <https://doi.org/10.1101/357681>

Благодарности: Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (проекты №14-14-00696 и №17-75-20099).

## МЕЖИНДИВИДУАЛЬНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ FDA-ОДОБРЕННЫХ БЕЛКОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ

Новикова С.Е., Фарафонова Т.Е., Шушкова Н.А., Згода В.Г.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ), 119121, Россия*

*Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8*

*[novikova.s.e3101@gmail.com](mailto:novikova.s.e3101@gmail.com)*

Протеомный состав биологического образца служит важнейшей характеристикой биологического объекта, и позволяет сделать вывод о его нормальном или патологическом состоянии. Определение белковых маркеров лежит в основе диагностики многих заболеваний, в том числе инфаркта миокарда, нарушения функций печени и почек, диабета, гормональных нарушений, воспаления и онкологических заболеваний. Направленный масс-спектрометрический анализ, а именно мониторинг выбранных реакций (selected reaction monitoring, SRM) с использованием синтетических изотопно-меченых внутренних пептидных стандартов (Isotopically labeled internal standard, SIS) является основной альтернативой методу ИФА для анализа диагностически значимых белков.

С помощью данного метода в цельной плазме крови, полученной от 8 здоровых добровольцев были проанализированы белки, рекомендованные для диагностики агентством по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA, Food and Drug Administration). В режиме динамического SRM мониторируются 912 транзиций для 300 прекурсоров, соответствующих 150 уникальным протеотипическим пептидам и их синтетическим аналогам, картируемым на 112 белков. В результате был зарегистрирован сигнал для 60 пептидов, соответствующих 46 белкам. Минимальное и максимальное содержание было определено для фактора свёртывания крови IX (фактор Кристмаса) (0,2 фмоль/мкг общего белка) и для константного участка легких цепей иммуноглобулинов каппа (1655 фмоль/мкг общего белка), соответственно. Для 28 пептидов, соответствующих 21 белку, коэффициент вариации измерений между здоровыми добровольцами оказался менее 30 %. Наибольшие изменения ( $CV > 70\%$ ) наблюдались для альфа, бета и гамма цепей фибриногена, С1-ингибитора комплемента, константного участка тяжелой цепи иммуноглобулина класса D, фибронектина, транстеритина, связывающего половые стероиды глобулина SHBG и липопротеина Lp(a).

Полученные результаты представляют собой фундаментальный научный задел для разработки диагностической тест-системы для количественного измерения с использованием направленной масс-спектрометрии белков, ассоциированных с развитием заболеваний.

## PROBING PLANT-MICROBIAL INTERACTIONS BY BOTTOM-UP PROTEOMICS: AGE-RELATED CHANGES IN LEGUME NODULE PROTEOME

Frolov A.,<sup>1,2</sup> Bilova T.,<sup>2,3</sup> Ihling C.,<sup>4</sup> Kim A.,<sup>2</sup> Tsarev A.,<sup>1,2</sup> Mamontova T.,<sup>1,2</sup> Lukasheva E.,<sup>1</sup> Shumilina J.,<sup>1,2</sup> Checkina A.,<sup>1</sup> Romanovskaya E.,<sup>1</sup> Grishina T.,<sup>1</sup> Demchenko K.,<sup>5</sup> Tsyganov V.,<sup>6</sup> Sinz A.,<sup>4</sup> Zhukov V. A.,<sup>6</sup> Becana M.,<sup>7</sup> Matamoros M.,<sup>7</sup> Wessjohann L. A.,<sup>2</sup> Tikhonovich I A.<sup>6,8</sup>

*afrolov@ipb-halle.de*

<sup>1</sup>St. Petersburg State University, Department of Biochemistry, Sredny Prospekt 41, St. Petersburg, Russia, <sup>2</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry, Weinberg 3, 06120 Halle/Saale, Germany, <sup>3</sup>St. Petersburg State University, Department of Plant Physiology and Biochemistry, Universitetskaya Naberezhnaya 7-9, 199034, Russia, <sup>4</sup>Department of Pharmaceutical Chemistry and Bioanalytics, Institute of Pharmacy, Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Kurt-Mothes Str. 3a, 06120 Halle/Saale, Germany, <sup>5</sup>Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Science, Professora Popova str., 2, Saint Petersburg, 197376, Russia, <sup>6</sup>The All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Department of Biotechnology, Podbelsky chaussee 3, St. Petersburg, Pushkin, 196608 Russia, <sup>7</sup>Departamento de Nutrición Vegetal, Estación Experimental de Aula Dei, Consejo Superior 11 de Investigaciones Científicas (CSIC), Apartado 13034, 50080 Zaragoza, Spain, <sup>8</sup>St. Petersburg State University, Department of Genetics and Biotechnology, Universitetskaya Naberezhnaya 7-9, 199034, Russia

Proteomics is a powerful tool of functional genomics, giving direct access to the molecular mechanisms underlying plant response to developmental signals, as well as metabolic pathways and regulatory networks involved in these responses. Thus, it is the method of choice for deciphering molecular mechanisms behind mutualistic plant microbial interactions, like legume-rhizobial symbiosis. Therefore, here we provide a comprehensive description of age-related changes in determinate and indeterminate root nodules of common bean (*Phaseolus vulgaris*) and pea (*Pisum sativum*), respectively. Juvenile, flowering and senescent plants were harvested; the proteins were isolated by phenol extraction and digested with trypsin. Resulted hydrolyzates were analyzed by nanoLC-ESI-Q- and LIT-Orbitrap-MS in a data-dependent acquisition (DDA) mode. Database search and annotation of PTMs were based on the SEQUEST algorithm, whereas quantification relied on the label-free strategy. The protein functions and localization were annotated by in house developed workflow, combined with MapMan, Mercator, LocTree3 and String tools. The analysis revealed 656 and 92 differentially regulated proteins in common bean and pea nodules, respectively. Thereby, plant proteins were mostly down-regulated and represented by the molecules involved in signaling and protein metabolism, whereas the most of bacterial polypeptides were up-regulated and involved in energy metabolism and nitrogen fixation. Interestingly, knockout in the gene *sym27* resulted in suppression of signaling and protein biosynthesis in both partners of the symbiosis. Remarkably, nodule ageing was accompanied with enhanced glycation and carbonylation. Thus, totally 36 age-related glycation hotspots were identified in the *P. vulgaris* nodule proteome.

The research was supported by the Russian Science Foundation (project 17-16-01042).

## Симпозиум IX: Медицинская генетика и моделирование болезней человека / Symposium IX: Medical Genetics and Disease Modelling

### ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ – ДЕТСКОЕ УВЛЕЧЕНИЕ ИЛИ ОСНОВА МЕДИЦИНЫ БУДУЩЕГО?

Баранов В.С.

ФГБНУ «НИИ АГур им.Д.О.Отта» РФ, Санкт-Петербург.

[baranov@vb2475.spb.edu](mailto:baranov@vb2475.spb.edu)

Достижения генетики в понимании структурно-функциональной организации генома человека, расшифровка первичной последовательности ДНК и идентификация тысяч генов существенно расширили представления о наследственной патологии, открыли принципиально новые возможности для выяснения причин возникновения и патогенеза моногенных (МЗ) и мультифакторных заболеваний (МФЗ) Прогрессирующая «генетизация» порождает «геномную» медицину (ГМ), которая не только позволяет поставить точный диагноз МЗ, но зачастую и определить наследственную предрасположенность человека к тому или иному МФЗ, предупредить болезнь или подобрать оптимальный вариант лекарственной терапии. Решение этих задач составляет основу нового направления - предиктивной медицины (ПМ). Термины «предиктивная медицина» (predictive medicine) ПМ, «гены предрасположенности (predisposition genes) и «генетический паспорт» (ГП) как база ДНК данных, содержащая важную для сохранения здоровья человека информацию об особенностях его генома, предложены в 2000г [ 1]. Они получили широкое распространение в рамках медицина 3ПМ ( Предиктивная, Превентивная и Персонализированная М ), а затем , учитывая роль пациента в сохранении здоровья-participatory (L.Hood 2008), как медицины- 4ПМ. По мере внедрения новых технологий, ГП усложняется, становится более информативным. Включая данные биоинформатики, системной генетики и «омиксной патогеномики» ГП становится неотъемлемой частью клинической медицины. Не исключено, что по мере совершенствования, ГП трансформируется в электронную геномную карту здоровья, включающую как геномные , так и клинические данные . Внедрение секвенирования нового поколения (NGS), создание обобщенных генетических и клинических баз данных уже реализуется в ряде стран на пути к созданию «точной геномной медицины». Разработка и внедрение масштабных международных проектов и национальных программ, направленных на поиски корреляций между вариациями генома и особенностями их фенотипического проявления, свидетельствует об актуальности и практической значимости исследований по ПППМ Важно отметить, что сам по себе сиквенс генома не заменяет ГП : для пациента и лечащего врача важны не последовательности нуклеотидов, а данные об особенностях генома, которые могут сигнализировать о наличии скрытой патологии, доступной профилактике или лечению.

- 1- Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э., Асеев М.В. «Геном человека и гены предрасположенности. Введение в предиктивную медицину». 2000.- СПб. «Интермедика», 263 стр.

## КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ПАТОГЕНЕЗА ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Лебедев И.Н.<sup>1</sup>, Серов О.Л.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> – НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, Россия, Томск, наб. Ушайки, 10.

<sup>2</sup> – ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10.

[igor.lebedev@medgenetics.ru](mailto:igor.lebedev@medgenetics.ru)

Хромосомные болезни имеют значительный вес в структуре врожденной и наследственной патологии человека. Обусловленные числовыми и протяженными структурными перестройками хромосом такие заболевания часто проявляются сложными комплексными фенотипами, включающими задержку развития, интеллектуальные нарушения, множественные врожденные пороки. Подобный эффект традиционно объясняется нарушениями экспрессии множества генов, затронутых хромосомным дисбалансом. Однако в последние годы с развитием высокоразрешающих технологий молекулярного кариотипирования стали накапливаться описания хромосомных заболеваний, связанных с изменениями копийности единственного гена. При этом их клиническая картина также характеризуются значительной сложностью. Более того, клинические эффекты хромосомных микроделений или микродупликаций, затрагивающих одни и те же гены, оказываются либо диаметрально противоположными, либо, напротив, сходными. Для объяснения наблюдаемых феноменов возникает задача оценки уровня экспрессии гена, затронутого хромосомной перестройкой, в целевых типах клеток в зависимости от известных или предполагаемых функций генов. Нами на примере двух реципрокных микроделений и микродупликаций 3p26.3, затрагивающих единственный ген *CNTN6*, ответственный за формирование синаптических взаимодействий при развитии ЦНС, с использованием технологии клеточного репрограммирования получена серия клеточных линий. Дальнейшая дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в нейроны позволила впервые описать ряд особенностей патогенеза хромосомного дисбаланса на клеточном и молекулярном уровне. Во-первых, экспрессия гена *CNTN6* в нейронах с дупликацией оказалась существенно снижена, аналогично тому, что наблюдается при делеции. Данный факт позволяет объяснить общность некоторых фенотипических эффектов, наблюдаемых у пациентов с полярными изменениями дозы генов. Во-вторых, клиническое проявление микродупликации зависело от родительского происхождения мутантного аллеля, объясняя неполную пенетрантность мутации в ряду поколений. В-третьих, наряду с изменениями в уровне экспрессии *CNTN6*, в нейрональных клетках отмечался широкий спектр дифференциально экспрессирующихся генов, маркирующих критически значимые для нормального нейрогенеза регуляторные пути. Таким образом, клеточное репрограммирование становится эффективным инструментом для исследования патогенетических эффектов хромосомного дисбаланса.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-15-00772.

## КАК ПОЛУЧИТЬ НОВЫЕ ЗНАНИЯ О ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АРХИТЕКТУРЕ ПРИЗНАКОВ, НЕ РАСПОЛАГАЯ ИНФОРМАЦИЕЙ ОБ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ФЕНОТИПАХ И ГЕНОТИПАХ

Белоногова Н.М.<sup>1</sup>, Свищева Г.Р.<sup>1,2</sup>, Зоркольева И.В.<sup>1</sup>, Кириченко А.В.<sup>1</sup>, Аксенович Т.И.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10;

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Москва, ул. Губкина, 3;

<sup>3</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

[belon@bionet.nsc.ru](mailto:belon@bionet.nsc.ru)

Полногеномный анализ ассоциаций, устанавливающий статистические связи между фенотипами и генотипами полиморфных вариантов, является основным инструментом для изучения генетической архитектуры признаков. Для проведения такого анализа обычно требуются огромные выборки, состоящие из сотен тысяч людей. Собрать их – крайне сложная задача.

Собранные массивы данных не выкладываются в общий доступ из соображений защиты персональных данных. Учитывая это, несколько лет назад было принято решение публиковать в открытом доступе полные результаты полногеномных (мета-)анализов больших выборок, представленные суммарными статистиками: P-значениями и оценками размера эффекта для миллионов генетических маркеров и широкого набора признаков и болезней человека. Основными преимуществами такого материала являются огромный размер выборок и доступность любому исследователю. Из этих данных можно извлекать новую информацию путем анализа ассоциаций на геномном уровне (gene-based association analysis), объединяя суммарные статистики по разным маркерам в пределах одного гена. До сих пор для этой цели существовала лишь пара простых и не самых мощных методов, тогда как основная их часть по-прежнему требовала информацию об индивидуальных генотипах и фенотипах.

Мы показали, что все популярные и статистически мощные методы анализа ассоциаций на геномном уровне можно модифицировать так, чтобы они использовали только суммарные статистики, находящиеся в открытом доступе. Мы реализовали эти методы в R-пакете sumFREGAT, доступном по адресу <https://CRAN.Rproject.org/package=sumFREGAT>. Новые методы извлекают информацию из локальных P-значений, оценок размера эффекта, аллельных частот, матриц неравновесия по сцеплению, - все эти данные уже находятся в свободном доступе. Разработанные методы не требуют учета специфики признака или выборки, поскольку они уже были учтены при проведении полногеномных (мета-)анализов. Это упрощает работу исследователя с пакетом sumFREGAT.

Мы применили новые методы к опубликованным результатам полногеномного анализа ишемической болезни сердца и показали, как можно получать новые знания о генетической архитектуре этой болезни, не располагая информацией о фенотипах и генотипах. Мы надеемся, что разработка пакета sumFREGAT будет способствовать более полному освоению уже собранных по всему миру данных.

Данная работа была выполнена при поддержке Минобрнауки [0324-2018-0017] и РФФИ [18-04-00076, 19-04-00204].

## ГЕНОМНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ И МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КОНСУЛЬТИРОВАНИЕ: ЧТО ТАКОЕ ХОРОШО И ЧТО ТАКОЕ ПЛОХО

Ижевская В.Л.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Россия, г. Москва, ул. Москоречье, д.1*

[izhevskaya@med-gen.ru](mailto:izhevskaya@med-gen.ru)

Концепция персонализированной медицины стала бурно развиваться благодаря современным генетическим технологиям, сделавшим доступными анализ последовательности экзона или генома человека. Научное знание, полученное благодаря новым технологиям анализа генома, бесценно: становятся понятными причины и молекулярные механизмы развития болезней. Наибольшие успехи в клиническом использовании геномного анализа достигнуты при моногенной патологии, т.е. при относительно «простых» состояниях, когда болезнь однозначно связана с конкретным изменением в генах, а факторы внешней среды оказывают на ее развитие незначительное влияние. Одна из выгод геномного анализа в этих случаях заключается в возможности установления точного диагноза, который заканчивает долгую «диагностическую одиссею» многих пациентов, при этом ранняя и точная диагностика может улучшить результаты терапии и предотвратить развитие серьезных осложнений. Успешно применяются геномные технологии и в дородовой диагностике, в том числе неинвазивной. Однако объем генетической информации, полученной этими методами, и сложность ее интерпретации требуют изменения подходов к медико-генетическому консультированию и приводят к ряду этических проблем. Часть из них обусловлена, так называемыми, вторичными или неожиданными находками, в связи с которыми обсуждаются такие проблемы, как долг врача информировать пациентов о таких находках, изменение содержания информации при получении согласия пациента на тестирование, моральная оправданность и экономическая целесообразность оппортунистического скрининга вариантов последовательности ДНК, которые приведут к развитию тяжелых заболеваний в будущем, особенно при обследовании детей. Неопределенность оценки патогенности вариантов последовательности ДНК и потенциальные изменения их интерпретации с течением времени обсуждается в контексте реализации этического долга повторного контакта врача с пациентом. Ряд проблем, касающихся биоэтики и этики общественного здравоохранения, возникает при геномном тестировании здоровых лиц, в том числе тестировании супружеских пар, использующих программы ЭКО, на гетерозиготное носительство мутаций, приводящих к наследственным заболеваниям. Таким образом, нельзя отрицать, что геномная медицина стала основой современной медицинской помощи, однако проблемы, в том числе этические, и потенциальные барьеры на пути эффективной ее реализации остаются.

Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ, проект № 18-013-01175

## О РОЛИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ТРОФОБЛАСТА

Кузнецова Т.В.

ФГБНУ Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им.Д.О.Отта, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3  
[tkuznetzova@mail.ru](mailto:tkuznetzova@mail.ru)

Благодаря уникальному происхождению и разнообразию функций, способности к самоподдержанию и дифференцировке на протяжении беременности, клетки трофобласта (ТБ) представляют собой естественную модель для изучения механизмов клеточной пролиферации, инвазии, неопластической трансформации, хромосомной нестабильности. Однако до сих пор не определены маркеры, специфические для различных типов ТБ, и обсуждаются критерии, которые позволили бы унифицировать характеристики клеток формирующегося хориона и в зрелой плаценте. Не решены проблемы, возникшие еще на заре пренатальной диагностики хромосомных болезней, когда объектом цитогенетического анализа стали метафазные хромосомы спонтанно делящихся клеток цитотрофобласта (ЦТБ). Основные из них – низкий митотический индекс и качество GTG-окраски на препаратах из нативных образцов хориона/плаценты, а также возможные диагностические ошибки, связанные с т.н. "ограниченным плацентарным мозаицизмом". Отказ от метафазного анализа в клетках ЦТБ в пользу скрининга частых анеуплоидий с помощью интерфазной FISH или КФ-ПЦР только усугубляет проблемы интерпретации полученных результатов. Молекулярные методы (ММА, NGS), которые широко используются в доимплантационном (ПГТ-А) и неинвазивном пренатальном скрининге (НИПТ), зачастую приводят к ложноположительным и ложноотрицательным результатам тестирования анеуплоидии вследствие мозаицизма, который свойственен как клеткам трофэктодермы бластоцисты, так и клеткам ТБ, приобретающим инвазивный фенотип (источниками "фетальной" ДНК). Серьезные проблемы, обусловленные гетерогенностью клеточного состава хориона/плаценты, а также кариотипической неоднородностью разных типов ТБ, возникают при изучении эпигенома (метилома, транскриптома, протеома) т.н. "плацентарной ткани". Важно отметить, что данные о стволовых клетках ТБ, генетической и эпигенетической регуляции их дифференцировки получены либо *in vitro* на разных клеточных линиях трофобласта с аномальным кариотипом, либо на образцах плаценты с неизвестным кариотипом. Наличие этих и других парадоксов существенно затрудняет изучение вклада патологии ТБ в репродуктивные потери и осложнения беременности. На примере особенностей организации метафазных хромосом ЦТБ подчеркивается, что современные цитогенетические методы позволяют получить уникальную информацию, которая может способствовать пониманию процессов имплантации, плацентации и функционирования плаценты в нормальном и патологическом эмбриогенезе человека.

## 30-ЛЕТНИЙ ОПЫТ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ МОНОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.

Иващенко Т.Э.

*НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта*

*Менделеевская линия, 3, Санкт-Петербург, 199034*

*Tivashchenko2011@mail.ru*

Пренатальная диагностика наследственных и врожденных заболеваний - раздел медицинской генетики, возникший в 80-х годах XX века на стыке клинических дисциплин (акушерство, неонатология) и фундаментальных наук (генетика человека, цитогенетика, молекулярная биология, эмбриология, биохимия), суть которого заключается в процессе выявления или исключения наследственных заболеваний плода. Медико-генетическое консультирование помогает ответить на жизненно важные вопросы родителей, касающиеся здоровья будущего ребенка. Известно, что на долю генных нарушений приходится в общей сложности до 5% всей врожденной патологии. Из них собственно моногенные болезни составляют около 1%. Для пренатальной диагностики, в первую очередь, представляют интерес генные болезни, приводящие к тяжелой патологии, в отношении которых пока отсутствуют или все еще малодоступны методы лекарственной терапии. Впервые в России пренатальная диагностика с использованием ДНК-методов осуществлена в Санкт-Петербурге в 1987 г. у женщины высокого риска рождения ребенка с муковисцидозом.

В настоящее время для идентификации клинически значимых мутаций в геноме пациента используется широкий спектр молекулярно-биологических методов. Стремительное развитие молекулярно-биологических технологий предъявляет новые требования к качеству медицинской диагностики в современном мире. В последние годы бурное развитие получили технологии массового параллельного секвенирования, которые позволяют за несколько дней проанализировать весь человеческий геном или большое количество генов (сотни и тысячи). Благодаря своей высокой производительности, технологии NGS находят применение в практической медицине. Появляются мультигенные панели для анализа наследственных мутаций в генах, ассоциированных с высоким риском развития наследственной патологии. Полногеномное, полноэкзомное, а также таргетное секвенирование могут быть использованы для поиска патогенных генетических вариантов при редких заболеваниях. Применение технологий секвенирования нового поколения дало мощнейший толчок для развития диагностики орфанных заболеваний в Российской Федерации и позволила выйти на новый уровень пренатальной диагностики моногенной патологии в РФ.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ ОПУХОЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ ДОСТАВКИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ НЕВИРУСНЫМИ МЕТОДАМИ

Киселев А.В., Егорова А.А., Петросян М.А., Маретина М.А., Швед Н.Ю., Полянских Л.С., Базиян Е.В., Балашова Н.Н., Баранов В.С.

<sup>1</sup>ФГБНУ "НИИ АГ и Р им Д.О.Отта", РФ, Санкт-Петербург, 199034, Менделеевская линия, 3;

[kiselev-anton-otta@yandex.ru](mailto:kiselev-anton-otta@yandex.ru)

Эндометрий и миометрий являются главными составными частями матки - важнейшего органа репродуктивной системы женщины. Патология этих тканей – наиболее частая причина бесплодия, хронических социально значимых болезней, патологии беременности и родов. Патологическая имплантация клеток эндометрия в брюшной полости у женщин ведет к тяжелому хроническому заболеванию – эндометриозу – доброкачественной опухоли, которая встречается у 10% - 25% всех женщин детородного возраста. Типичным нарушением миометрия является другая доброкачественная опухоль – миома (лейомиома) матки, которая берет начало из гладкомышечных клеток. Миома матки встречается у 30-50% женщин и твердо занимает 2-е место в структуре гинекологической патологии.

Лечение эндометриоза и миомы матки остается предметом споров до настоящего времени. Хирургическое лечение зачастую не способствует восстановлению специфической функции женского организма и не исключает рецидивов заболевания. Адекватным методом лечения эндометриоза могло бы стать использование интерферирующих РНК, способных снизить экспрессию про-ангиогенных факторов, что может приводить к снижению ангиогенеза и прекращению развития заболевания. В случае миомы матки локализованность миоматозных узлов делает их идеальной мишенью для генной терапии с использованием суицидных генов. Нами исследованы ДНК- и РНК-пептидные комплексы, конъюгированные с адресной последовательностью рецептора CXCR4 и интегринов  $\alpha v\beta 3$ , трансфекционная активность и специфичность доставки которых была продемонстрирована *in vitro* на культурах клеток с различным содержанием соответствующих рецепторов. Была проведена хирургическая индукция эндометриоза у крыс с последующей доставкой *in vivo* комплексов пептидных носителей с анти-VEGF- и контрольной мРНК и сравнительной оценкой размеров эндометриозидных имплантов до и после введения нуклеопептидных комплексов. Также было проведено моделирование суицидной генной терапии миомы матки путем переноса с помощью пептидных носителей плазмиды с геном тимидин-киназы вируса HSV1 в первичные клетки, полученные оперативным путем из миоматозных узлов пациенток с миомой матки, с последующей обработкой трансфицированных клеток ацикловиром и оценкой их пролиферативной активности. Полученные результаты могут послужить основой развития и практического внедрения органосохраняющих методов генной терапии эндометриоза и миомы матки.

**Благодарности:** данная работа выполняется в рамках государственного задания №558-2019-0012.

## ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ АДИПОГЕНЕЗА В ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ ГЕТЕРОТОПИЯХ: ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭНДОМЕТРИОЗА

Мальшева О.В.<sup>1,2</sup>, Осинская Н.С., Швед Н.Ю.<sup>1</sup>, Ярмолинская М.И.<sup>1</sup>, Баранов В.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ АГиР им.Д.О.Отта, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия д.3;

<sup>2</sup>СЗГМУ им.Мечникова, Россия, Санкт-Петербург, Пискаревский проспект д.47

[omal99@mail.ru](mailto:omal99@mail.ru)

Эндометриоз - одно из наиболее распространенных гинекологических заболеваний, при котором вне полости матки имеются очаги роста ткани, морфологически подобной эндометрию. Существуют три основные теории, объясняющие происхождение таких очагов. Согласно теории ретроградной менструации, фрагменты эндометрия с обратным током менструальной крови попадают в брюшную полость, оседают и прорастают в окружающие ткани. Новая версия этой теории предполагает имплантацию стволовых клеток, существование которых в менструальной крови доказано. Метапластическая теория предполагает возможность развития эндометриоидной ткани из клеток мезотелия брюшины. Источником эндометриоидных образований в этом случае могут быть метаплазировавшие клетки мезотелия или стволовые клетки брюшины. Дизонтогенетическая теория предполагает развитие очагов эндометриоза из эмбриональных остатков мюллеровых протоков. Ни одна из перечисленных теорий не доказана экспериментально.

Мы провели сравнительный анализ транскриптома эутопического эндометрия и перитонеальных эндометриоидных гетеротопий методом RNAseq, полученные результаты были верифицированы с помощью ОТ-РВ-ПЦР и ИГХ, и провели дополнительное исследование экспрессии ряда генов в брюшине пациенток с эндометриозом. Среди генов, гиперэкспрессированных в очагах эндометриоза, особенно выделялись три: *C7* (компонент комплемента 7), *FABP4* (связывающий жирные кислоты белок 4) и *ADH1B* (алкогольдегидрогеназа 1B) – для всех них различия в уровне экспрессии были кратны 200-300 ( $FDR < 10^{-15}$ ). В ходе выполнения работы мы показали, что изученные нами гены экспрессируются в эндометриоидных гетеротопиях на уровне, характерном для подлежащих тканей (брюшины).

Белки *FABP4* и *ADH1B* известны как маркеры адипогенеза, белок *C7* также вовлечен в дифференцировку стволовых клеток жировой ткани. Одинаково высокий уровень экспрессии исследованных генов в очагах эндометриоза и подлежащей брюшине может говорить об общности происхождения этих тканей, свидетельствуя в пользу метапластической теории происхождения очагов эндометриоза. Также полученные нами данные могут быть интерпретированы как указание на возможную роль стволовых клеток адипогенного ряда в патогенезе эндометриоза. В нашей работе мы впервые показали потенциальные молекулярные механизмы, через которые может осуществляться связь между развитием эндометриоидных гетеротопий и хорошо известными особенностями формирования жировой ткани у пациенток с эндометриозом.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ 14-15-00737

## МОНОГЕННЫЕ CNV: ЧАСТОТА, ПРОИСХОЖДЕНИЕ, КЛИНИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ

Кашеварова А.А., Скрыбин Н.А., Лопаткина М.Е., Беляева Е.О., Назаренко Л.П.,  
Лебедев И.Н.

НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Россия, Томск, Наб. р. Ушайки, 10, 634050

[anna.kashevarova@medgenetics.ru](mailto:anna.kashevarova@medgenetics.ru)

Развитие молекулярно-генетических технологий позволяет сузить регионы поиска кандидатных генов заболеваний, переходя с уровня протяженных микроделеций/микродупликаций на уровень моногенных, сходных по физической основе с Менделевскими болезнями, а по клиническому эффекту – с хромосомными синдромами, проявляющимися большим разнообразием симптомов. Целью данного исследования явилась характеристика вариаций числа копий участков ДНК (CNV), затрагивающих единственный ген, у пациентов детского возраста с интеллектуальными нарушениями. Анализ проводился с помощью микрочипов Agilent 60K (США). Для подтверждения CNV и определения их происхождения применялась ПЦР в реальном времени. Всего в работе исследовано 410 пациентов. У 151 ребенка (37%) были обнаружены CNV различных хромосомных областей размером от нескольких десятков т.п.н. до нескольких миллионов п.н. При этом у 20 пациентов (13%) выявлены моногенные и внутригенные микроделеции и микродупликации. Их размер варьировал от 43 т.п.н. до 766 т.п.н. Из них только dup3p26.3, целиком включала единственный ген *CNTN6* и могла считаться моногенной. Остальные CNV были разделены на группы: собственно внутригенные с точками разрывов внутри гена (9), 5'-CNV, захватывающие часть гена с 5'-конца (7) и 3'-CNV (3), включающие часть гена с 3'-конца. Таким образом, независимо от типа мутации (микроделеция или микродупликация) подавляющее большинство CNV нарушало целостность гена. Десять мутаций были подтверждены с помощью ПЦР: одна возникла *de novo*, пять и три были унаследованы от матери и отца, соответственно. Еще в одной семье у двух sibсов имелись идентичные del3p26.3, происхождение которых ввиду недоступности родителей определено не было. Преимущественное родительское происхождение моногенных CNV еще больше сближает их с генными мутациями, лежащими в основе Менделевских болезней. Всего 20 CNV затрагивали 17 генов (*CNTN6*, *DDX10*, *CTNNA3*, *SYT10*, *THSD4*, *PLA2G4A*, *IMMP2L*, *COL26A1*, *MBD5*, *SNTB1*, *LSAMP*, *TSPAN7*, *DIO2*, *AGBL4*, *NR3C2*, *GYPA*, *FADD*). При совокупном анализе данных генов с помощью ресурса GeneMANIA оказалось, что 12 из них (70%) ко-экспрессируются; 14 (82%) взаимодействуют между собой; продукты восьми имеют одинаковые белковые домены (47%). Очевидно, такое широкое пересечение выявленных генов неслучайно и вполне объясняет наблюдаемый у пациентов общий клинический эффект – интеллектуальные нарушения.

Работа была выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 16-15-10231

## ИНДУКЦИЯ И САМОКОРРЕКЦИЯ АНЕУПЛОИДИЙ В ЭМБРИОНАХ ЧЕЛОВЕКА НА ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОМ ЭТАПЕ ОНТОГЕНЕЗА

Скрябин Н.А.<sup>1</sup>, Жигалина Д.И.<sup>1</sup>, Канбекова О.Р.<sup>2</sup>, Артюхова В.Г.<sup>3</sup>, Светлаков А.В.<sup>1</sup>, Лебедев И.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, РФ, Томск, Набережная реки Ушайки, 10;

<sup>2</sup>Областное государственное автономное учреждение здравоохранения "Областной перинатальный центр им. И.Д. Евтушенко", РФ, Томск, ул. Черных 96/1

<sup>3</sup>ООО «Красноярский центр репродуктивной медицины», РФ, Красноярск, ул. Взлетная, д. 1  
[nikolay.skryabin@medgenetics.ru](mailto:nikolay.skryabin@medgenetics.ru)

Хромосомные аномалии являются одной из основных причин, вносящих вклад в этиологию ранней эмбриональной гибели. Около 30% зигот формируются анеуплоидными половыми клетками, при этом к третьему дню эмбриогенеза частота аномальных эмбрионов превышает 50%. То есть идет интенсивный мутационный процесс, причины и механизмы которого пока остаются малоизученными. В то же время к пятому дню эмбриогенеза наблюдается снижение частоты анеуплоидных бластоцист, что свидетельствует о наличии процессов элиминации анеуплоидных клеток из тканей эмбриона.

Нами была изучена 31 бластоциста. От каждой бластоцисты было получено по 3 образца: внеклеточная ДНК (внДНК) из внутрисполостной жидкости, трофэктодерма и эмбриобласт. Анализ образцов был выполнен с помощью aCGH и NGS после полногеномной амплификации.

Частота бластоцист с хромосомными абберациями составила 74% (23/31). При сравнительном исследовании молекулярных кариотипов различных компартментов бластоцисты 32% (67/209) хромосомных аномалий были представлены реципрокными анеуплоидиями. Данный феномен возникает в результате митотического нерасхождения хромосом, следовательно, он позволяет оценить вклад *de novo* аномалий в возникновении хромосомного мозаицизма и объясняет увеличение частоты анеуплоидий от зиготы до эмбрионов 3 дня эмбриогенеза.

При анализе связи между числом хромосомных аббераций и группами бластоцист по степени бластуляции было отмечено, что у хорошо развивающихся бластоцист в эмбриобласте и трофэктодерме присутствует меньше анеуплоидий ( $p = 0,0141$  и  $p = 0,0436$ , соответственно). При аналогичном анализе, проведенном для внДНК, была отмечена тенденция к увеличению числа хромосомных аномалий во внДНК при переходе от 3 к 5 стадии развития бластоцисты, что свидетельствует о более интенсивной элиминации клеток с хромосомными мутациями и поддерживает гипотезу о самокоррекции эмбрионального кариотипа.

Уровень внутритканевого хромосомного мозаицизма составил 36 % для эмбриобласта, 29% для трофэктодермы и 57% для внеклеточной ДНК. Наблюдаемое повышение уровня мозаицизма во внДНК по сравнению с клетками бластоцисты также указывает в пользу гипотезы об элиминации анеуплоидных клеток.

Таким образом, в настоящем исследовании было показано, что 32% анеуплоидий возникают вследствие *de novo* митотических ошибок сегрегации хромосом. Также получены данные свидетельствующие о наличии механизмов самокоррекции эмбрионального кариотипа за счет элиминации анеуплоидных клеток.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №15-04-08265.

## DYSREGULATION OF POSTSYNAPTIC TRANSLATION IN AUTISM SPECTRUM DISORDER: RECONSTRUCTION OF GENE NETWORK ASSOCIATED WITH AUTISM AND MTOR SIGNALING

Trifonova E.A.<sup>1,2</sup>, Klimenko A.I.<sup>1</sup>, Saik O.V.<sup>1</sup>, Orlov Y.L.<sup>1,2</sup>, Lashin S.A.<sup>1</sup>, Ivanisenko V.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup> *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

*et@bionet.nsc.ru, orlov@bionet.nsc.ru*

Autism spectrum disorder (ASD) affects 1% of world population and has become a pressing medical and social problem worldwide. As a paradigmatic complex genetic disease, ASD has been intensively studied. It is postulated that one of the mechanisms involved in ASD pathogenesis is disruption in mTOR signaling pathway [1]. The aim of this work was reconstruction and bioinformatic analysis of gene networks associated with ASD, related to the mTOR signaling.

We compiled list of genes associated with ASD based on the information from SFARI database (<https://gene.sfari.org>). We analyzed the gene sets from the SFARI Gene database, KEGG database, and from four published studies containing 1. genes that are most reproducibly recognized as FMRP targets [2], 2. mTOR-sensitive genes from the NanoCAGE database, 3. genes included in mTOR signaling network [3], and 4. vitamin D responsive genes and elements [4]. Thus, five sets of genes were identified and the set theory relations between them were considered in the work. We have quantified the percentages of the mTOR signaling network members, the extremely sensitive to mTOR pathway activity, FMRP targets, and vitamin D targets among the genes cataloged in SFARI Gene. We have demonstrated that out of 1053 genes included in the SFARI Gene database, 606 (58%) can be attributed to one of the four groups.

Table 1. All the genes from SFARI Genes database divided into categories.

Category of genes	Number of genes
FMRP target	258
mTOR signaling pathway	42
mTOR-modulated	314
Vitamin D sensitive	223
None	447

Among them PTEN had the highest value of betweenness centrality (16214) and it was in the top 20 most central genes of ASD gene network according to ANDSys. Three genes PTEN, APC, and DOCK1 have fallen into all four categories examined.

The results obtained in this work suggest that genes/proteins from the mTOR signaling pathway have central role in the gene network associated with ASD. The mTOR signaling pathway is highly connected to ASD gene network. Among them PTEN, APC, and DOCK1 could be the most perspective for further investigation as potential drug targets.

**Acknowledgment.** The authors acknowledge ICG SB RAS budget projects 0324-2019-0040 and 0259-2019-0008.

[1]. Trifonova E.A. et al., Molecular Mechanisms of Autism as a Form of Synaptic Dysfunction. // 2017. Rus. J. of Genet.: Ap. Res., V.7, P. 869–877. [2]. Jansen A. et al., Gene-set analysis shows association between FMRP targets and autism spectrum disorder. // 2017. Eur J. Hum. Genet. V. 25, P. 863-868. [3]. Caron E. et al., A comprehensive map of the mTOR signaling network. // 2010. Mol. Sys. Biol. V.6, P. 1-15. [4]. Wang et al., Large-Scale in Silico and Microarray-Based Identification of Direct 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Target Genes // 2005. Mol. Endocrinol. V.19, P. 2685-95

## ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА РЕДКИХ (ОРФАННЫХ) ЗАБОЛЕВАНИЙ ДО И ПОСЛЕ РОЖДЕНИЯ

Глотов О.С.<sup>1,3,5</sup>, Глотов А.С.<sup>1,3,5</sup>, Серебрякова Е.А.<sup>1,3,5</sup>, Туркунова М.Е.<sup>4</sup>, Башнина Е.Б.<sup>2</sup>, Барбитов Ю.А.<sup>1</sup>, Иващенко, Т.Э.<sup>3</sup>, Федяков М.А.<sup>5</sup>, Сарана А.М.<sup>1,5</sup>, Щербак С.Г.<sup>1,5</sup>, Баранов В.С.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», <sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, <sup>3</sup>ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», <sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, <sup>5</sup>ГБ СПб ГБУЗ «Городская больница №40», г. Санкт-Петербург, Россия, [olglotov@mail.ru](mailto:olglotov@mail.ru)

Введение: В настоящее время существует серьезный прогресс в лечении пациентов с редкими болезнями. Разработанные препараты не только продлевают жизнь таким больным, но и могут существенно улучшать ее качество. Во многом эффективность лечения пациентов с орфанными болезнями зависит от правильно установленного диагноза. Единственным точным методом, который позволяет четко верифицировать диагноз, является генетический анализ. Установление точного диагноза позволит не только провести пренатальную и/или преимплантационную диагностику, родить здорового ребенка, но и существенно снизить нагрузку на региональный бюджет (до 348 млн руб в течение 4-х лет). Материалы и методы: На сегодняшний момент для оценки эффективности диагностики нами произведено исследование более 650 экзотов пациентов с разными нозологиями. В частности удалось определить выявляемость и спектр мутаций у детей с моногенным сахарным диабетом (МСД-MODY). В исследование были включены пациенты с СД манифестировавшим в возрасте первых 6 месяцев жизни, а также группа пациентов с "мягким" течением СД сохраненной секрецией инсулина, отсутствием диабетогенных аутоантител. При исследовании ДНК пациентов использовался метод полноэкзомного секвенирования, анализировались следующие гены: *HNFI1A*, *GCK*, *HNFI4A*, *HNFI1B*, *PDX1*, *NEUROD1*, *KLF11*, *CEL*, *PAX4*, *INS*, *BLK*, *EIF2AK3*, *RFX6*, *WFS1*, *ZFP57*, *FOXP3*, *KCNJ11*, *ABCC8*, *GLUD1*, *HADH* (*SCHAD*), *SLC16A1*, *UCP2*, *INSR*, *AKT2*, *GCG*, *GCGR*, *PPARG*, *PTFI1A*. Биоинформационный фильтринг результатов секвенирования образцов ДНК проводили с помощью программ: «GeneTalk», «UGENE», «Ion Reporter», «SIFT», «PolyPhen2», «PAP1». Для ранжирования вариантов использована оригинальная ранее разработанная метрика. Верификация полученных данных проводили методом прямого секвенирования на приборе «Genetic Analyzer 3500» США). Были исследованы образцы ДНК 72 пациентов с подозрением на наличие МСД. МСД был подтвержден у 51% (n=37). Наиболее часто встречались мутации в гене *GCK*-39% (n=23), у 3 пациентов выявлены патогенные мутации в нескольких генах 4%, *HNFI1A* -2,7% (n=2), *WFS1*-2,7% (n=2), *EIF2AK3*-2,7% (n=2), *PAX4*-1,4% (n=1), *GATA6*-1,4% (n=1), *FOXP3*-1,4% (n=1), *KCNJ11*-1,4% (n=1), *ABCC8*-1,4% (n=1). Частота выявляемости моногенных форм СД в нашей группе выше, чем описано в литературе, и составляет 51%. Высокая выявляемость может быть связана как с особенностями нашей группы, так и с использованным биоинформатическим подходом. Заключение: Таким образом, проведенное исследование демонстрирует эффективность современных методов молекулярной генетики для установления точного диагноза, позволяет прогнозировать течение заболевания и вносить коррективы в лечение СД.

Исследование поддержано Фондом "КАФ" в рамках программы "Альфа-эндо", грантом РНФ №14-50-00069, полноэкзомное секвенирование выполнена на базе РЦ «Центр Биобанк» Научного парка СПбГУ.

## ОТЦОВСКАЯ мтДНК ПЕРЕДАЕТСЯ В НЕСКОЛЬКИХ ПОКОЛЕНИЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ.

Кидготко О.В.<sup>1</sup>, Соколова В.А.<sup>1</sup>, Кустова М.Е.<sup>1</sup>, Басс М.Г.<sup>1</sup>, Захарова Ф.М.<sup>1,2</sup>, Рунова О.Л.<sup>1</sup>, Васильев В.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский Государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7-9.

[vadim@biokemis.ru](mailto:vadim@biokemis.ru)

Наследование мутантной мтДНК и её распределение по органам в пренатальном развитии имеет ключевое значение для возникновения болезней ОХРНOS (от ‘oxidative phosphorylation’), для которых характерно нарушение обмена энергии в поражённых тканях. Моделирование болезней на животных может помочь раскрыть их патогенез, прояснив закономерности распределения мтДНК по тканям. Ранее мы получили лабораторных мышей из зигот, инъецированных митохондриями человека. Трансмитохондриальные (ТМ) мыши передавали мтДНК человека по материнской линии в 6-8 поколениях. Использовались малые количества мтДНК человека, и нарушений обмена энергии не отмечалось, но чужеродная мтДНК служила надёжным маркером для отслеживания распределения митохондриального генома. ТМ мыши были использованы для проверки возможности передачи самцами мышей чужеродной (человеческой) мтДНК их потомству. В пяти родословных, основанных самцами – потомками четырёх ТМ самок, выявлено отцовское наследование мтДНК в 3-6 поколениях. Распределение чужеродной мтДНК, передаваемой от отцов, отчасти повторяло таковое, наблюдаемое при изучении материнского наследования у ТМ мышей. Условия, необходимые для персистенции и распределения чужеродной мтДНК у ТМ мышей, были определены в их раннем развитии, при изучении 1-, 2-, 4- и 8-клеточных зародышей, полученных при скрещивании ТМ самцов (поколения F<sub>0</sub>-F<sub>4</sub>) с обычными самками. Среди одноклеточных зародышей процент ТМ клеток равнялся 7,6±0,76% (92 из 1212), среди двухклеточных, четырёхклеточных и восьмиклеточных эта доля равнялась 8,1±1,5%, 32,4±5,7% и 30,6±2,2% (132 из 411), соответственно. Увеличение доли высоко достоверно согласно критерию Хи-квадрат с поправкой Йейтса (29,12,  $p < 0,001$ ) и двустороннему критерию Фишера ( $p < 0,001$ ), что косвенно указывает на репликацию чужеродной мтДНК ещё до стадии бластоцисты. Полученные результаты показывают, что отцовская мтДНК не обязательно элиминируется из зародыша и может передаваться далее по отцовской линии. Эти результаты согласуются с данными других авторов, предположивших вероятный механизм сохранения отцовской мтДНК в зиготе, а также косвенно подтверждаются недавним наблюдением отцовского наследования у человека в трёх неродственных семьях.

## THE CHANGES OF EXPRESSION OF GENES ENCODING NEUROTROPHIC FACTORS AND THEIR RECEPTORS ASSOCIATED WITH PARKINSON'S DISEASE ON A MODEL OF HUMAN INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS

Novosadova E.V., Nenasheva V.V., Makarova I.V., Dolotov O.V., Grivennikov I.A.,  
Tarantul V.Z.

*Институт молекулярной генетики РАН, Москва, пл. Курчатова 2,  
tarantul@img.ras.ru*

On a model of human induced pluripotent stem cells (iPSC) derived from patients with Parkinson's disease (PD) we studied the gene expression of neurotrophic factors (NTFs) and their receptors. We took into analysis five PD patient-derived cell lines and three cell lines from healthy donors (HD) at the different stages of neuronal differentiation. At all the stages (fibroblasts, iPSC, neuronal progenitors (NP), terminally differentiated neurons (TDN), predominantly dopaminergic (DA)) the significant differences between the levels of most analysed transcripts in HD-derived cells and in PD patient-derived cells were observed. So, we found the dysregulation of transcription of a few NTFs in fibroblasts of PD patients compared with HD demonstrating that different systems of organism are involved in PD. In PD-derived iPSC, the transcription of most NTFs and their receptors was decreased. In PD-derived NP, there was an increase of *BDNF*, *NGF*, and *p75<sup>NTR</sup>* genes transcription and a decline of the transcription of *NT-3*, *TrkC*, and *TH*. In the most PD-derived DA neurons, the mRNA expression of *BDNF*, *TrkB*, *p75<sup>NTR</sup>*, *NGF*, and *TrkA* genes enhanced (or was not altered) and the *NT-3* transcription was reduced in comparison with HD-cells. ELISA showed that the essential for the survival of neurons proteins BDNF and GDNF were lowered significantly in DA neurons of patients unlike HD-derived cells in spite of the intensified transcription of their genes. We assume that at the early stages of PD either changes in the stability of individual mRNAs of NTFs or their receptors, or translation disorders are present.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и грантов РФФИ № 16-0400475 и № 17-2906008

## РОЛЬ АЛЛЕЛЬНЫХ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В РАЗВИТИИ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ И РАКА ЖЕЛУДКА

Юсупова Л.Ф.<sup>1</sup>, Шаймарданова Э.Х.<sup>1</sup>, Нургалиева А.Х.<sup>1</sup>, Габбасова Л.В.<sup>2</sup>, Курамшина О.А.<sup>2</sup>, Крюкова А.Я.<sup>2</sup>, Мунасыпов Ф.Р.<sup>3</sup>, Хуснутдинов Ш.М.<sup>3</sup>, Сакаева Д.Д.<sup>3</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Россия, г. Уфа, ул. Ленина, 3;

<sup>3</sup>ГБУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер», Россия, г. Уфа, Проспект Октября, 73/1;

<sup>4</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Россия, г. Уфа, Проспект Октября, 71.  
[liliyagallyamova@mail.ru](mailto:liliyagallyamova@mail.ru)

Наиболее частыми и агрессивными заболеваниями ЖКТ по праву можно считать язвенную болезнь (ЯБ) и рак желудка (РЖ). Основой патогенеза данных заболеваний является воспаление слизистой оболочки желудка, вызываемое инфицированием бактерией *Helicobacter pylori*. Несмотря на то, что бактерия не внедряется в ткани, она вызывает интенсивные воспалительные и иммунные реакции, что в свою очередь ведет к активации матриксных металлопротеиназ (ММП). ММП могут влиять на развитие заболеваний ЖКТ, в связи с этим актуальным представляется исследование полиморфизма генов ключевых ММП для определения их роли в развитии ЯБ и РЖ.

Целью данной работы стал анализ ассоциаций аллельных вариантов *rs494379*, *rs1799750* гена ММП-1, *rs3025058* гена ММП-3 и *rs17576* гена ММП-9 у 353 больных ЯБ, у 296 больных РЖ, а также у 325 здоровых индивидов. ДНК была выделена из лейкоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование проводилось с помощью метода ПЦР-ПДРФ.

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов *rs494379* между больными ЯБ и здоровыми индивидами выявил, что генотип *rs494379* A/G является маркером повышенного риска развития ЯБ для татар и русских ( $\chi^2=8,74$ ;  $p<0,01$ ; OR=2,37 и  $\chi^2=2,62$ ;  $p=0,05$ ; OR=1,66, соответственно). Обнаружено, что в контрольной группе татар достоверно чаще встречается генотип *rs494379* A/A, чем в соответствующей группе больных ЯБ ( $\chi^2=5,26$ ;  $p=0,01$ ; OR=0,51). При этом статистически значимых ассоциаций данного полиморфного варианта с РЖ в нашей работе не обнаружено.

Анализ дупликации гуанина в положении  $-1607G>GG$  показал, что частота встречаемости генотипа *rs1799750* GG/G гораздо выше у татар, страдающих ЯБ, а также у татар с РЖ, чем в контроле ( $\chi^2=4,25$ ;  $p=0,02$ ; OR=1,94 и  $\chi^2=5,7$ ;  $p=0,02$ ; OR=2,1, соответственно).

Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов *rs3025058* между больными ЯБ, больными РЖ и здоровыми донорами статистически значимых различий не выявил.

Ассоциативный анализ *rs17576* показал, что для татар генотип *rs17576* A/G является маркером повышенного риска развития ЯБ ( $\chi^2=7,2$ ;  $p<0,01$ ; OR=2,19). Аллель *rs17576* G достоверно чаще встречается у русских, страдающих РЖ, чем в контроле ( $\chi^2=3,55$ ;  $p=0,04$ ; OR=1,44).

В целом результаты данной работы подтверждают важную роль генов ММП в патогенезе ЯБ и РЖ.

Исследование поддержано РФФИ (грант №17-44-020497 p\_a) и программой поддержки биоресурсных коллекций ФАНО.

## АНАЛИЗ СПЕКТРА МУТАЦИЙ И ПОИСК НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ ИЗ РОССИИ

Филатова Е.В.<sup>1</sup>, Шадрина М.И.<sup>1</sup>, Н.С. Крылова<sup>2</sup>, А.Е. Дёмкина<sup>2</sup>, П.А. Сломинский<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Россия, Москва, пл. академика Курчатова,  
2; <sup>2</sup> ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Россия, Москва, ул.  
Островитянова, 1  
[filatovaev@img.ras.ru](mailto:filatovaev@img.ras.ru)

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) является самой распространённой формой наследственных болезней сердца, встречающейся в общей популяции с частотой 1:500. Она характеризуется гипертрофией стенки левого и/или изредка правого желудочка. С генетической точки зрения ГКМП является крайне гетерогенным заболеванием с сильно варьирующими пенетрантностью и экспрессивностью. Несмотря на многолетние исследования, до сих пор не выявлены все гены, которые могут быть связаны с патогенезом ГКМП, и как минимум в четверти случаев генетическая основа ГКМП остаётся не выявленной. При этом патогенетическая значимость большинства выявленных при ГКМП мутаций остаётся до конца не выясненной, поскольку очень низкая встречаемость большинства мутаций в популяции и небольшой размер семей не позволяют провести анализ cosegregation в достаточном объёме. У российских больных не описан спектр генов и мутаций, которые вносят вклад в развитие данного заболевания в нашей популяции.

В связи с этим крайне актуальной является изучение генетических факторов, связанных развитием ГКМП в российской популяции. Нами проведено таргетное секвенирование 174 генов (в том числе 8 основных генов ГКМП (*MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, *MYL2*, *MYL3*, *TRPM1*, *ACTC2*, *TNNI3*)), для которых показана ассоциация с развитием 17 наследственных болезней сердца. Такое целевое секвенирование ДНК пациентов с ГКМП позволило выявить как спектр патогенетически значимых мутаций в основных генах ГКМП, так и ряд новых вариантов с предполагаемой патогенетической значимостью, характерных для пациентов с ГКМП из России. Кроме того, проведение клинико-генетического анализа позволило оценить вклад отдельных мутаций и генов в формирование клинических признаков при ГКМП.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-015-00322.

## ОЦЕНКА КЛИНИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ ХРОМОСОМНЫХ МИКРОДУПЛИКАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕДИФФЕРЕНЦИРОВАННОЙ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТЬЮ

Беляева Е.О., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н.

НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Россия, Томск, Наб. р. Ушайки, 10, 634050

[eo-belyaeva@mail.ru](mailto:eo-belyaeva@mail.ru)

Вопросы интерпретации данных технологий полногеномного анализа являются актуальным и важным предметом для обсуждения, поскольку клиническую значимость детектируемых вариаций числа копий ДНК (CNV) зачастую сложно оценить. Обширную группу среди выявляемых делеций и дупликаций, классифицируемых также на доброкачественные и патогенные, составляют варианты неопределённого значения. В отличие от микроделеций, вклад микродупликаций в наследственную и врожденную патологию человека до сих пор остается недооцененным в научной литературе, вероятно, в связи с более мягкими и варибельными фенотипическими проявлениями, частым наследованием от условно здоровых родителей, что не позволяет однозначно интерпретировать их как патогенные. Настоящее исследование посвящено генетической и клинической характеристике пациентов с недифференцированными формами интеллектуальных расстройств и хромосомными микродупликациями. С помощью микрочиповой диагностики был исследован кариотип 200 детей с недифференцированной умственной отсталостью, дисморфиями и/или врожденными аномалиями. Верификация и анализ происхождения CNV осуществлены с использованием ПЦР в реальном времени. Для характеристики клинической значимости частичных трисомий проводился анализ размера, наследования, количества и функций затронутых генов. Для 67 пациентов (34%) установлен широкий спектр патогенных и потенциально патогенных CNV. У 38 детей-носителей CNV с неопределённой значимостью идентифицировано 14 делеций и 24 дупликации, что в общей группе пациентов составило соответственно 7% и 12%. 11 больным установлен диагноз микроделеционного/микродупликационного синдрома (5%). 18 пациентов (9%) имели сочетания различных типов CNVs (с патогенным и потенциально патогенным значением). Анализ происхождения частичных трисомий показал, что 5 микродупликаций (36%) возникли *de novo*, а в 9 случаях (64%) были унаследованы от фенотипически здоровых родителей (33% - отцовского происхождения, в 67% - материнского). Унаследованные микродупликации имели размер до 1 м.п.н., а для более крупных перестроек было характерно происхождение *de novo*. В работе описан и детально охарактеризован ряд новых для мировой практики хромосомных микродупликаций, проведено исключение их популяционного полиморфизма, очерчены особенности клинического проявления у пациентов с недифференцированными формами умственной отсталости.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 16-15-10231.

## EXTRACELLULAR INFORMATION MOLECULES IN THE CANCER PATIENT BLOOD: WHAT DO THEY "TELL" ABOUT THE PATIENT

Рыкова Е.Ю.<sup>1,2,5</sup>, Запорожченко И.А.<sup>1,2</sup>, Пономарева А.А.<sup>3</sup>, Брызгунова О.Е.<sup>1,2</sup>,  
Лехнов Е.А.<sup>1,2</sup>, Коношенко М.Ю.<sup>1,2</sup>, Пашковская О.А.<sup>2</sup>, Морозкин Е.С.<sup>1,2</sup>, Власов  
В.В.<sup>1</sup>, Чердынцева Н.В.<sup>3</sup>, Ажикина Т.Л.<sup>4</sup>, Лактионов П.П.<sup>1,2</sup>

*1 Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk,*

*2 Meshalkin Siberian Federal Biomedical Research Center, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Novosibirsk,*

*3 Tomsk Cancer Research Institute of SB RAMS, Tomsk,*

*4 Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Moscow, Russia*

Cancer therapy could be improved based on appropriate screening diagnostics aimed for early cancer detection, therapeutic efficiency and recurrent disease evaluation. Development of liquid biopsy assays based on tumor-derived circulating DNA and RNA (cirNA) detection which are present in the blood plasma and other biological fluids is promising. However challenging are the low proportion of tumor NAs in the total cirNA pool, high degree of fragmentation and tissue-specific DNA methylation patterns. In order to create highly specific and sensitive tests the cirNA comparative study was made using next generation sequencing, microarray and real-time quantitative PCR for groups of healthy donors, lung cancer and prostate cancer patients.

Analysis of 84 microRNA expression levels was made using miRCURY LNA miRNA qPCR Panels Serum/Plasma (Exiqon, Denmark) in the urine samples from prostate cancer and benign hyperplasia patients versus healthy men. The diagnostic system based on the expression ratios of 5 miRNA pairs comprised of 10 miRNAs allowed discriminate prostate cancer patients from the control group including both benign hyperplasia patients plus healthy men with 100% specificity and 97% accuracy. Similar study was carried for 179 microRNA expression levels in the blood plasma samples from lung cancer patients and healthy subjects. LASSO-penalized logistic regression model, including 10 miRNA ratios comprised of 14 individual miRNAs discriminated lung cancer patients from both control groups with AUC of 0.979. Methylation status was studied for 4 single-copy tumor suppressor genes using methyl-specific PCR and for L1 and Alu repeats using targeted sequencing on HiSeq (Illumina) of bisulfite-converted cirDNA from the blood plasma of lung cancer patients and healthy subjects. Lung cancer diagnostics was developed based on detection of (1) L1Hs and AluScgqzx methylation levels in the blood cirDNA; (2) methylation level of 2 genes (RASSF1A and TCF21) in the blood cirDNA. To summarize, the modern high-performance techniques provide the effective cancer markers discovery. Verification of the selected markers assays based on quantitative PCR in the extended patient groups is underway.

This work was supported by Russian Science Foundation (project No. 16-15-00124).

**Симпозиум X: Селекция и биотехнология растений / Symposium X: Plant  
Biotechnology and Breeding****THE HISTORY OF B CHROMOSOMES**

Jones N.

B chromosomes are a little known and little understood component of the genome in thousands of plant and animal species, and a few fungi. They are non-essential and present on only some individuals of a population. They do not pair with any members of the A-chromosome genome, are harmful in high numbers and lack adaptive significance. In some species they are selfish genetic elements with mitotic/meiotic drive processes. They are devoid of B-specific genes, but do share some protein coding genes with members of the A-chromosome set from which they originate.

The lecture will tell the story of these enigmatic chromosomes, based on a collection of the world literature and covering the last 110 years since their discovery. Key information is recorded in B Chromosomes (Jones and Rees 1982), B Chromosomes in the Eukaryote Ge (ed. Juan Pedro Camacho Cytogenet Genome Res. 106 2004.) and numerous original research papers and reviews. The latest news is given in a Special Issue of Genes 2019: "Evolution, Composition and Regulation of Supernumerary B Chromosomes".

## КЛЕТОЧНАЯ ПАМЯТЬ И ПОЛИВАРИАНТНОСТЬ ОНТОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ

Ежова Т.А.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, 119234, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Биологический факультет МГУ;

[ezhova2001@mail.ru](mailto:ezhova2001@mail.ru)

В основе развития растений и животных лежит способность клеток сохранять и передавать дочерним клеткам установленное направление детерминации, определяющееся особым спектром экспрессирующихся генов. Поддержание клеточным клоном своей идентичности базируется на эпигенетических механизмах, среди которых основными являются модификации гистоновых белков и метилирование ДНК. У модельного растения *Arabidopsis thaliana* выявлены гены, кодирующие компоненты PRC1 и PRC2-комплексов, гены, кодирующие ДНК- и гистоновые-метилтрансферазы и хроматиновые белки. Показано, что между компонентами, осуществляющими эпигенетические модификации у растений и животных, имеется достаточно большое сходство. Вместе с тем у животных и растений, должны принципиально различаться механизмы, регулирующие поддержание стабильности эпигенетических изменений. Об этом свидетельствуют особенности эпигенетических изменений, присущие только растениям. Первая особенность заключается в широкой распространенности поливариантности онтогенеза у растений, заключающейся в формировании на базе одного генотипа разных морфотипов и даже жизненных форм. Такая поливариантность базируется на эпигенетическом изменении экспрессии ключевых генов морфогенеза и может выражаться в изменении структуры органов (листьев, цветка) у растений в разных экологических условиях. Вторая особенность заключается в способности эпигенетических изменений у растений передаваться следующему генеративному поколению. О стабильности эпигенетических изменений свидетельствуют не только результаты генетического анализа эпиталлелей, но и данные изучения природных популяций *A. thaliana*. Эти особенности указывают на существование у растений уникальных систем контроля времени жизни (стабильности/лабильности) эпигенетических изменений, которые отсутствуют у животных. В докладе на примерах будут продемонстрированы вышеуказанные особенности эпигенетических изменений у растений, показаны современные данные об эпигенетических механизмах регуляции экспрессии генов у растений и рассмотрены возможные подходы для выявления генов, контролирующих уровень стабильности эпигенетических модификаций в зависимости от условий окружающей среды. Данная работа была выполнена при поддержке Гранта РФФИ (16-04-00437 и 19-04-00149).

## АНАЛИЗ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМОВ С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

Карлов Г.И.<sup>1</sup>, Дивашук М.Г., Разумова О.В., Крупин П.Ю.

<sup>1</sup>*Вероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Россия, г. Москва 127550, ул. Тимирязевская, 42.*

*karlovg@gmail.com*

Анализ структурно-функциональной организации геномов растений позволяет использовать результаты для создания ДНК маркеров хозяйственно-ценных признаков сельскохозяйственных растений. Эти данные также имеют важное значение при использовании межвидовой гибридизации для интрогрессии полезных признаков в культурные растения. В работе на примере различных сельскохозяйственных культур приводятся результаты создания маркеров для повышения эффективности селекционного процесса на основе анализа структурной организации отдельных генов, групп генов и геномов в целом. Кроме молекулярных маркеров высокую эффективность показывают молекулярно-цитогенетические маркеры, которые могут быть использованы для анализа межвидовых гибридов и сортов растений, несущих интрогрессии чужеродного генетического материала. Сравнительный анализ репитомов культурных растений и их дикорастущих сородичей позволяет не только оценить эволюционные взаимосвязи видов, но выявить видоспецифичные молекулярные и цитогенетические маркеры. Оценена эффективность использования в селекционном процессе различных подходов маркирования хозяйственно-ценных признаков.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФ 16-16-00097, 17-76-10232, 18-76-00035, 17-76-10060.

## ЭФФЕКТИВНЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ НА ОСНОВЕ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЯ *STELLARIA MEDIA* ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Комахин Р. А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии”, Россия, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42

[recombination@iab.ac.ru](mailto:recombination@iab.ac.ru)

Данное исследование направлено на изучение промоторов генов антимикробных пептидов растения мокрицы (*S. media*) с целью создания новых регуляторных элементов для координированной экспрессии генов в двудольных растениях.

Ранее были клонированы промоторы генов гевеин-подобных пептидов *pro-SmAMP1* и *pro-SmAMP2* мокрицы, которые при транзientной экспрессии в растении *N. benthamiana* в 2-4 раза превосходили вирусный промотор CaMV35S, а в растениях рапса и сахарной свёклы были сопоставимы с ним. В гомозиготных линиях трансгенных растений табака промоторы были в 2 раза сильнее, чем CaMV35S. По эффективности контроля гена *nptII* при селекции трансгенных растений табака и арабидопсиса на средах с антибиотиком канамицином промоторы не уступали дублицированному промотору CaMV35S [1, 2].

В настоящем исследовании обратили внимание на то, что минимальные промоторы *pro-SmAMP1* и *pro-SmAMP2* идентичны на 94% и различаются точечными заменами и инсерциями/делециями вне канонических цис-элементов. Однако имеющийся полиморфизм приводит к достоверным различиям их свойств. При транзientной экспрессии *pro-SmAMP1* (-119 п.н.) в два раза сильнее, чем аналогичный по размеру *pro-SmAMP2* (-121 п.н.). При этом *pro-SmAMP2* по эффективности контроля гена *nptII* при селекции трансгенных растений табака в три раза конститутивнее, чем *pro-SmAMP1*. Выяснение функциональности полиморфизмов в нуклеотидных последовательностях нативных промоторов методом сайт-направленного мутагенеза откроет путь к созданию новых синтетических промоторов, сочетающих в себе их лучшие свойства.

Значительная идентичность нуклеотидных последовательностей *pro-SmAMP1* и *pro-SmAMP2* ограничивает их использование в составе одной генетической конструкции для исключения рекомбинации между повторами. Для создания новых регуляторных элементов методом прогулки по хромосоме клонировали промоторы генов  $\alpha$ -харпинина *pro-SmAMP-X* и дефензина *pro-SmAMP-D1* мокрицы. Новые промоторы не имеют гомологии с другими известными промоторами и при транзientной экспрессии сопоставимы по эффективности с вирусным промотором CaMV35S.

Работа поддержана РФФИ в рамках научного проекта № 19-016-00067.

Список литературы

1. Komakhin R.A. et al., Novel strong promoter of antimicrobial peptides gene *pro-SmAMP2* from chickweed (*S.media*) // BMC Biotechnol. 2016. 16(1):43. doi: 10.1186/s12896-016-0273-x.
2. Маджарова Н.В. и др., Промоторы *pro-SmAMP1* и *pro-SmAMP2* из дикорастущего растения *S.media* для биотехнологии двудольных растений // Физиология растений. 2018. № 5. с. 388-400.

## ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ *HvPIP2;1* ГЕНА НА СПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК ЛИСТЬЕВ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА ПОГЛОЩАТЬ И УДЕРЖИВАТЬ ВОДУ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ РАЗНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ

Шарипова Г.В., Кулуев Б.Р., Кудоярова Г.Р.

Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, Россия, г.Уфа, 450054, пр. Октября, 69;  
Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Россия, г.Уфа, 450054, пр. Октября, 71  
[guzel@anrb.ru](mailto:guzel@anrb.ru)

Трансгенные растения с модифицированной экспрессией генов аквапоринов являются удобным объектом для выявления роли водных каналов аквапоринов в регуляции устойчивости растений к дефициту воды. Однако данные о том, как повышение экспрессии генов, кодирующих водные каналы аквапоринов, влияет на засухо- и солеустойчивость растений, противоречивы. Мы изучили влияние засоления разной интенсивности на полученные путем агробактериальной трансформации трансгенные растения табака, экспрессирующие *HvPIP2;1* ген ячменя под контролем конститутивного 35S промотора. Высечки из листьев разных ярусов инкубировали в течение двух суток на растворах хлорида натрия с концентрацией от 100 до 500 мМ, и затем определяли их сырой вес и осмотический потенциал сока. За время инкубации на 100 мМ растворе NaCl, вес высечек увеличивался, в основном, за счет поглощения воды. Прибавка в весе высечек из листьев трансгенных растений, экспрессирующих *HvPIP2;1* ген, была в среднем в полтора раза больше, чем в контроле (у растений, трансформированных «пустым» вектором). Очевидно, большее накопление сырой массы у трансгенных растений экспрессирующих аквапорин ячменя было связано с их повышенной способностью поглощать воду. На фоне высокой концентрации NaCl, вес высечек из листьев, наоборот уменьшался за счет потери воды. Уровень потерь был в 6 раз выше у *HvPIP2;1* трансгенных растений по сравнению с контролем, что очевидно было связано с большей проницаемостью клеточных мембран для воды. Аквапорины способны проводить воду как внутрь клеток, так наружу, а направление потока воды зависит от градиента водного потенциала. Характер изменения веса листьев и измерение их осмотического потенциала, показало, что растения были способны поддерживать градиент осмотического потенциала на фоне более низких концентраций соли, и, в этих условиях, повышение проницаемости мембран для воды у *HvPIP2;1* трансгенных растений обеспечивало больший приток воды в клетки. На фоне высокой концентрации соли механизм осмотической адаптации уже не был эффективен, и листья теряли воду, что делало *HvPIP2;1* трансгенные растения более уязвимыми за счет снижения их водоудерживающей способности. Растения способны изменять экспрессию генов аквапоринов в зависимости от доступности воды для растений. Конститутивная повышенная экспрессия генов аквапоринов увеличивает устойчивость растений к слабому дефициту воды, но снижает – к сильному. Эта информация важна для биотехнологии создания устойчивых к дефициту воды сортов.

## MASSIVE ANALYSIS OF CDNA ENDS (MACE-SEQ): VERSATILE NGS-BASED TRANSCRIPTOMICS FOR BASIC RESEARCH AND PRECISION BREEDING

Winter P, Horres R, Hoffmeier K, Jost L, Rodriguez A, Grunz F, Figueiredo R, Rotter B  
*GenXPro GmbH, Germany, Frankfurt, Altenhöferallee 3*

*pwinter(at)genxpro.de*

Precision Breeding enables to design crops with desired traits using marker-assisted selection. Ideally, such markers are derived from the genes that confer these traits. Thus, methods are needed to i) identify the trait-governing genes and ii) simultaneously generate markers that enable their use in breeding. Massive analysis of cDNA ends (MACE)-Seq is a Next-Generation Sequencing (NGS)-based 3'-end transcription profiling technology fulfilling these requirements. MACE-Seq delivers highly precise quantification of up to 30.000 individual mRNAs and at the same time identifies SNPs in the most variable part of each transcript. In breeding populations segregating for agronomic relevant traits, MACE-Seq usually detects 800 to 2000 significantly differentially expressed genes as well as 5000-6000 high-quality SNPs that can be directly converted into markers for breeding. Both can be used for (comparative) genetic mapping resulting in high-density genic QTL maps into which quantitative gene expression data are integrated similar to phenotypic traits as eQTL in a single sequencing step. MACE-Seq produces precise transcription profiles from as little 50-100ng total RNA, since the MACE-Seq procedure and the kit include the Unique Molecular Identifier (UMI) technology developed and patented by GenXPro. Since unlike RNA-seq, MACE-Seq produces only one sequencing read per transcript, it is highly cost efficient. Moreover, in combination with Bulk Segregant Analysis (BSA) it readily detects the genes underlying mono- and oligogenic traits with a few sequencing reactions. With a little more effort it detects the genes governing polygenic traits in populations comprising hundreds of individuals or may be used for association mapping in natural populations. Besides a routine lab application workflow provided with the MACE-Seq kit, it is supported by an easily applicable bioinformatics routine available on the GenXPro server. MACE-Seq has been applied for model as well as non-model organisms including many crops such as Einkorn [1] barley, pea, rye, *Lolium* [2], *Festuca*, rape seed, tomato etc.. MACE-Seq is sufficiently sensitive to comprehensively measure gene expression even of a pathogen within the plant tissue [3] and thus may contribute to a hitherto not available understanding of plant-pathogen interactions. In summary, MACE-Seq represents a unique platform technology for speeding up precision breeding to cope with the increasing population in the world.

[1]. Serfling A, Templer SE, Winter P, Ordon F. Microscopic and Molecular Characterization of the Prehaustorial Resistance against Wheat Leaf Rust (*Puccinia triticina*) in Einkorn (*Triticum monococcum*). *Front Plant Sci.* 2016 Nov 9;7:1668. eCollection 2016

[2] Bojahr J, Nhengiwa O, Krezdorn N, Rotter B, Saal B, Ruge-Wehling B, Struck C, Winter P. Massive analysis of cDNA ends (MACE) reveals a co-segregating candidate gene for LpPg1 stem rust resistance in perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Theor Appl Genet.* 2016;129:1915-1932

[3] Fondevilla S, Krezdorn N, Rotter B, Kahl G, Winter P. In planta Identification of Putative Pathogenicity Factors from the Chickpea Pathogen *Ascochyta rabiei* by De novo Transcriptome Sequencing Using RNA-Seq and Massive Analysis of cDNA Ends. *Front Microbiol.* 2015;6:1329. eCollection 2015.

**Acknowledgements:** This work was and is supported by various German and international research projects on agronomical and medical problems.

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ДУПЛИЦИРОВАННЫХ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА ФЛАВОНОИДОВ У ВИДОВ ТРИБЫ TRITICEAE

Стрыгина К.В.<sup>1</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44  
[pushpandzhali@bionet.nsc.ru](mailto:pushpandzhali@bionet.nsc.ru)

Вторичные метаболиты флавоноиды синтезируются большинством высших растений, включая злаки. Регуляция экспрессии генов биосинтеза флавоноидов может осуществляться с помощью генетических и эпигенетических механизмов. Генетическая регуляция происходит с помощью комплекса «MBW», который формируется благодаря совместному действию транскрипционных факторов (ТФ) Myb, bHLH и WD40. При этом такой эпигенетический фактор, как метилирование ДНК, имеет важное значение для связывания ТФ с *цис*-регуляторной областью генов. Однако механизмы регуляции тканеспецифической экспрессии генов биосинтеза флавоноидов у злаков до сих пор слабо исследованы. Целью настоящей работы была характеристика копий генов MYB, bHLH и WD40 в трибе Triticeae, с одной стороны, и исследование паттернов метилирования промоторов дуплицированных генов биосинтеза флавоноидов мягкой пшеницы *Triticum aestivum*, с другой. В данной работе в геномах представителей трибы Triticeae были впервые идентифицированы и охарактеризованы копии генов *bHLH* во 2 и 4 гомеологических группах хромосом, копии генов *Myb* в 4 и 7 гомеологических группах хромосом, а также ортологи WD40-кодирующего гена кукурузы *ZmPAC1* на хромосомах 6 гомеологической группы. Благодаря изучению структуры данных генов и исследованию их транскрипционной активности впервые был выявлен полный спектр регуляторных генов *MBW*, контролирующих синтез антоцианов в перикарпе зерновки пшеницы *T. aestivum* и алейроновом слое и перикарпе ячменя *Hordeum vulgare*. Мы продемонстрировали, что основным регулятором появления голубой окраски зерна ячменя является bHLH-кодирующий ген *HvMyb2* (4HL). Информация об аллельных отличиях в этом гене использовалась для разработки CAPS-маркера, позволяющего проводить ускоренную селекцию сортов с повышенной пищевой ценностью зерна. Также был выявлен bHLH-кодирующий ген-кандидат, определяющий окраску колеоптиле мягкой пшеницы, - *TaMyb-V1* (2BL). Было показано, что гены *bHLH* второй гомеологической группы хромосом пшеницы являются потенциальными регуляторами биосинтеза антоцианов в колеоптиле пшеницы в условиях стресса. Кроме того, в результате анализа паттернов метилирования промоторов регуляторных и структурных генов биосинтеза флавоноидов мягкой пшеницы было показано, что в специфичном характере регуляции экспрессии изученных генов метилирование данных областей не вносит существенного вклада. Таким образом, характер метилирования промоторов данных генов не является ключевым в регуляции транскрипции. В целом результаты сравнения структурно-функциональной организации ортологичных, гомеологичных и паралогичных копий генов биосинтеза флавоноидов демонстрируют, что поддержание их функционального состояния у представителей трибы Triticeae является причиной их тканеспецифической активности.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 16-14-00086).

## ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ АГРОБАКТЕРИАЛЬНЫХ И СПОНТАННЫХ ОПУХОЛЕЙ РЕДИСА (*RAPHANUS SATIVUS* L.)

Ткаченко А.А.<sup>1</sup>, Правдина О.Ю.<sup>1</sup>, Предеус А.В.<sup>2</sup>, Додуева И.Е.<sup>1</sup>, Лутова Л.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9; <sup>2</sup>Институт биоинформатики, Россия, Санкт-Петербург, ул. Кантемировская, 2А.

[castorfiber@list.ru](mailto:castorfiber@list.ru)

Меристемы — это специализированные ткани, дающие начало всем типам растительных клеток, и поэтому представляющие важный объект изучения для биологии развития растений. Помимо регулярных меристем, присутствующих у всех растений, некоторые растения способны образовывать нерегулярные меристемы при взаимодействии с патогенами или из-за генетических детерминантов. В данной работе мы применили секвенирование РНК для изучения феномена спонтанного образования у редиса из генетической коллекции Санкт-Петербургского государственного университета, а также сравнили процесс спонтанного опухолеобразования у редиса с хорошо изученной моделью образования опухолей при заражении агробактериями.

Мы секвенировали РНК нескольких образцов опухолей, формирующихся на корнях редиса в период цветения, и сравнили их с образцами боковых корней тех же растений. Анализ дифференциальной экспрессии генов показал, что 613 имеют повышенную экспрессию в опухолях, в то время как 1022 гена обладают пониженной по сравнению с боковыми корнями экспрессией в опухолях. Среди генов, чья экспрессия в опухолях повышена, мы обнаружили гены ответа на ауксины, гены транскрипционных факторов семейства ARR, регулируемых цитокининами, а также несколько генов, которые кодируют циклины и экспансины. Гены с пониженной в опухолях экспрессией были обогащены генами ответа на стресс. Мы сравнили данные о дифференциальной экспрессии генов в спонтанных опухолях с результатами секвенирования РНК у агробактериальных опухолей и обнаружили сходства в гормональном ответе в различных типах опухолей.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-16-100 11.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Денисова Е.Р., Байер М.А., Куприянова Е.В.

Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва,

ул. Ленинские горы 1/12

[evgeniya.denisova.1998@mail.ru](mailto:evgeniya.denisova.1998@mail.ru)

Проблема загрязнения окружающей среды со временем встаёт всё острее. Большинство отраслей промышленности сопряжены с образованием отходов, которые захораниваются на специально отведенных полигонах. Это приводит к загрязнению прилегающих территорий, а если при создании подобных свалок допущены технические ошибки, попадание в окружающую среду токсичных веществ приобретает катастрофический характер и представляет угрозу здоровью людей. Для оценки угрозы населению вблизи полигонов необходим мониторинг генотоксичности среды, в котором могут использоваться разнообразные тест-системы на основе бактерий, растений, животных, клеток человека и пр. Общие черты тест-систем – простота воспроизведения и высокая пропускная способность. Самые новые тест-системы базируются на использовании трансгенных микроорганизмов, содержащих ген люциферазы под контролем промоторов генов, активирующихся в присутствии генотоксичных соединений. Эти гены кодируют ферменты антиоксидантных систем, контролируют клеточные деления и репарацию ДНК. Прокариотические тестеры позволяют минимизировать время мониторинга, однако их использование в оценке потенциальной генотоксичности для эукариотических организмов вызывает вопросы. Задачей нашей работы является разработка новой тест-системы, основанной на использовании трансгенных растений *Arabidopsis thaliana*, содержащих в геноме репортерный ген *GUS* под промотором гена циклина *CycB1;1*. Ген *CycB1;1* является компонентом системы репарации ДНК в растениях и индуцируется транскрипционным белком SOG1 после его активации чекпойнт-протеинкиназой ATM. Взаимодействие *CycB1;1* с CDKB1 активирует белок RAD51, необходимый для репарации по типу гомологичной рекомбинации [1]. Анализ экспрессии трансгена *CycB1;1::GUS* служит показателем активации репарации повреждений ДНК, возникающих под действием генотоксикантов. Исследования экспрессии *CycB1;1::GUS* проводятся на проростках (молодые листья, корни), каллусах и цветущих трансгенных растениях с параллельной оценкой генетических эффектов ксенобиотиков с помощью эмбрион-теста и анализа пыльцы. Поскольку токсичные соединения приводят к остановке клеточной пролиферации, на каллусных культурах осуществляется и анализ маркера пролиферативной активности – трансгена *KN1::GUS*. Наши исследования могут послужить основой для создания новых эффективных тестеров генотоксичности на основе трансгенных растений. Скорость мониторинга в дальнейшем может быть повышена за счет замены репортера *GUS* на *GFP*.

[1]. Weimer A.K., Biedermann S., Harashima H., Roodbarkelari F., Takahashi N., Foreman J., Guan Y., Pochon G., Heese M., Van Damme D., et al., The plant-specific CDKB1-CYCB1 complex mediates homologous recombination repair in *Arabidopsis*. // 2016, EMBO J., V. 35(19), P. 2068-2086.

## ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ НОВОЙ СТРАТЕГИИ ГЕТЕРОЗИСНОЙ СЕЛЕКЦИИ КАРТОФЕЛЯ

Гавриленко Т.А.<sup>1,2</sup>, Анисимова И.Н.<sup>1</sup>, Антонова О.Ю.<sup>1</sup>, Клименко Н.Н.<sup>1</sup>, Алпатьева Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И.Вавилова» (ВИР), Россия, Санкт-Петербург, Большая Морская, 42-44

<sup>2</sup>Санкт Петербургский Государственный Университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

[tatjana9972@yandex.ru](mailto:tatjana9972@yandex.ru)

Методы создания высокопродуктивных гетерозисных гибридов, получаемых от межлинейных скрещиваний, широко используются для кукурузы, подсолнечника, перца и других культурных растений. Для повышения эффективности массового производства гибридных семян этих культур в скрещивания вовлекают инбредные родительские линии с генной или с цитоплазматической мужской стерильностью, а также линии, несущие доминантные аллели генов восстановления фертильности пыльцы (*Rf*).

Для возделываемого картофеля *Solanum tuberosum* - важнейшей вегетативно размножаемой культуры, данное направление селекции и семеноводства ранее не разрабатывалось. Традиционную селекцию картофеля существенно осложняет ряд генетических факторов: стерильность многих форм, автотетраплоидность, высокий уровень гетерозиготности, тетрасомное наследование признаков и проявление сильной инбредной депрессии. Вегетативный способ размножения картофеля, способствующий накоплению вирусных и других инфекций, осложняет репродукционное размножение селекционных сортов.

Недавно ряд зарубежных генетиков и селекционеров предложили новую стратегию развития селекции и семеноводства картофеля, основанную на создании диплоидных инбредных линий, линейно-гибридной селекции и использовании технологий TPS (True Potato Seeds). Прогнозируемыми преимуществами новой стратегии является: кардинальное сокращение сроков селекционного процесса за счет повышения эффективности отбора на диплоидном уровне, а также возможность сокращения длительных и затратных технологий безвирусного семеноводства, поскольку подавляющее большинство патогенов с пылью не передается. Недавно были продемонстрированы первые успешные результаты оценки диплоидных гетерозисных гибридов, продуктивность которых не уступала коммерческим тетраплоидным сортам (Lindhout et al. 2018); эти гибриды получают на основе кастрации и опыления вручную инбредных диплоидных линий картофеля. Информация о генетических системах ЦМС-*Rf* картофеля предельно ограничена. Это связано с тем, что признак мужской стерильности, хотя и проявляется у большинства селекционных сортов, никогда не был приоритетным в селекции картофеля.

В докладе представлены результаты изучения встречаемости разных типов стерильных и фертильных цитоплазм в генофонде культурных и диких видов картофеля; особенности фенотипического проявления разных типов мужской стерильности; результаты изучения полиморфизма ряда локусов митохондриальной ДНК и оригинальные данные о полиморфизме последовательностей гомологов *RFL-PPR*-генов в геноме *S. tuberosum*. Обсуждаются перспективы гетерозисной селекции картофеля.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №16-16-04125.

## POLYPLOIDY, DIPLOIDIZATION AND KARYOTYPE EVOLUTION

Lysak M.A., Mandáková T., Pouch M., Guo X.

*CEITEC – Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno, Czech Republic*  
[martin.lysak@ceitec.muni.cz](mailto:martin.lysak@ceitec.muni.cz)

Polyploidy (i.e., whole-genome duplications, WGD) is widespread across land plant phylogenies and particularly frequent in ferns and angiosperms. Such genome duplications spurred the evolution of key innovations associated with diversification in many angiosperm clades and lineages. However, the diversifications were not initiated by genome doubling per se. Rather, differentiation of the primary polyploid populations through a range of processes results in post-polyploid genome diploidization. Structural diploidization gradually reverts the polyploid genome to one functionally diploid-like through chromosomal rearrangements which frequently result in dysploid changes (i.e., reduction of chromosome number). Thus, the extant chromosome number variation in many plant groups, and especially monophyletic taxa with multiple base chromosome numbers ( $x$ ), frequently results from clade-specific WGDs followed by diploidization. Dysploidies may lead to reproductive isolation among post-polyploid offspring and significantly contribute to speciation and cladogenetic events. The impacts of WGD events and post-polyploid diploidization on diversification and evolution of karyotype structures are particularly well described in a number of crucifer species and clades (the mustard family, Brassicaceae).

**Acknowledgements:** This work was supported by the Czech Science Foundation (grant no. 19-06632S).

## AMYLOIDS AND PRIONS IN PLANTS

Nizhnikov A.A.<sup>1,2</sup>, Antonets K.S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Russia, Saint-Petersburg 196608;

<sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, Russia, Saint-Petersburg 199034

[a.nizhnikov@arriam.ru](mailto:a.nizhnikov@arriam.ru)

Amyloids represent protein fibrils with characteristic spatial structure and unique properties including resistance to several acids, proteases and detergents. Infectious amyloids are called prions. Amyloids were identified in all major branches of the living world: Archaea, Bacteria and Eukarya. They not only perform variety of biological functions but are causative agents of dozens incurable diseases in humans and animals. To date, plants remain to be the only group of organisms where amyloid properties were not demonstrated for any proteins under native conditions *in vivo*. Nevertheless, there are several evidences indicating amyloid structure of plant proteins *in vitro* [for review, see 1]. Also, recent bioinformatic data suggest association of amyloidogenic regions with highly conserved barrel domains in seed storage proteins in the most land plant species with sequenced and annotated genomes [2]. In this talk we will discuss probable biological roles and physiology of plant amyloid-forming proteins as well as their potential agricultural and biotechnological importance. Recent experimental data from our laboratory demonstrating amyloid properties of several plant proteins will also be highlighted.

### References:

1. Antonets K.S., Nizhnikov A.A. Amyloids and prions in plants: facts and perspectives // *Prion*, 2017, V.11, P.300-312.
2. Antonets K.S., Nizhnikov A.A. Predicting amyloidogenic proteins in the proteomes of plants // *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, V.18, e2155.

**Acknowledgements:** This work was supported by the Russian Science Foundation, Grant 17-16-01100

## РОЛЬ ПЕПТИДОВ CLE В РАЗВИТИИ ЗАПАСАЮЩИХ КОРНЕЙ И ПОБЕГОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Додуева И.Е., Ганчева М.С., Кузнецова К.А., Полюшкевич Л.О., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

Развитие запасяющих органов - важный экономически значимый признак, тем не менее, его генетический контроль изучен слабо. В основе их развития лежит вторичный рост, или рост утолщением, который осуществляется за счет активности латеральной меристемы камбия и его производных. В контроле активности меристем центральную роль играют пептиды семейства CLE (CLAVATA3/ ENDOSPERM SURROUNDING REGION); в частности, регуляторами активности камбия у арабидопсиса являются CLE41/44 и CLE42. Известно также, что развитие запасяющих органов зависит от минерального питания: так, высокое содержание азота задерживает клубнеобразование у картофеля. При этом пептиды CLE участвуют в реакции растения на азот: у *A. thaliana* экспрессия генов *CLE1*, *-3*, *-4*, и *-7* индуцируется его нехваткой и подавляет рост боковых корней, предотвращая разрастание корневой системы в неблагоприятных условиях; гомологи этих генов *CLE* участвуют также в регуляции числа клубеньков у бобовых. Представляется весьма логичным провести исследования функций пептидов CLE на видах растений с запасяющими органами. Объектами послужили представители родов *Raphanus*, *Brassica* и *Beta*, формирующие запасяющий корень, и *Solanum tuberosum*, формирующий модифицированный запасяющий побег – клубень. Мы провели идентификацию генов *CLE* у видов, взятых в анализ, проанализировали их экспрессию при развитии запасяющих органов с помощью ПЦР-РВ и с использованием репортерных конструкций, а также изучили эффект сверхэкспрессии некоторых генов *CLE*. У всех проанализированных видов количественный анализ экспрессии генов *CLE* показал активацию экспрессии в тканях, обеспечивающих рост запасяющего корня или клубня, для генов, которые являются гомологами CLE41 и CLE44 арабидопсиса - *StCLE8* и *StCLE12* картофеля, *RsCLE41* и *BrCLE41* редиса и видов *Brassica*. С помощью репортерных конструкций выявлена экспрессия этих же генов в зонах, обеспечивающих рост запасяющих органов. В трансгенных запасяющих корнях со сверхэкспрессией гена *CLE41* показана активация камбия и подавление дифференцировки одревесневающих элементов ксилемы. У картофеля также был выявлен наиболее вероятный регулятор ответа клубнеобразования на содержание азота - ген *StCLE24*, гомолог *CLE1*, *-3*, *-4*, и *-7 A. thaliana*, уровень экспрессии которого менялся в зависимости от уровня нитратов. Таким образом, в развитии запасяющих побегов и корней играют роль несколько высоко консервативных регуляторов.

Исследования поддержаны грантами РФФ 16-16-10011, РФФИ 18-04-01017 и РФФИ 18-34-00020.

## МЕЖВИДОВАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ, ПОЛИПЛОИДИЗАЦИЯ, ВТОРИЧНАЯ ДИПЛОИДИЗАЦИЯ КАК ПОВТОРЯЮЩИЙСЯ ЦИКЛ В ЭВОЛЮЦИИ ЦВЕТКОВЫХ РАСТЕНИЙ: ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЯВЛЕНИЯ

Родионов<sup>1,2</sup> А.В., Гнутиков<sup>1,3</sup> А.А., Журбенко<sup>1</sup> П.М., Крайнова<sup>1</sup> Л., Матейкович<sup>1</sup> П.А.,  
Мачс<sup>1</sup> Э.М., Михайлова<sup>1</sup> Ю.В., Носов<sup>1</sup> Н.Н., Пунина<sup>1</sup> Е.О., Шнеер<sup>1</sup> В.С., Лоскутов<sup>2,3</sup>  
И.Г., Муравенко<sup>4</sup> О.В.

1 - Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, ул. Профессора Попова 2, Санкт-Петербург, 197376 Россия; 2- Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034, Россия; 3 - ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), ул. Большая Морская 42-44, Санкт-Петербург, 190000, Россия; 4- Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта, ул. Вавилова 32, Москва, 119991, Россия

[avrodionov@mail.ru](mailto:avrodionov@mail.ru)

По представлениям флористов виды гибридного происхождения встречаются в 16 % родов с частотой 9 видов гибридов на 100 видов негибридного происхождения. Полиплоидов в природе – по разным оценкам 45-70%. Эти расчеты касаются только таких гибридов и таких полиплоидов, которые несут необычное сочетание таксономически значимых признаков и такой кариотип, хромосомный набор которого со всей очевидностью свидетельствует о его полиплоидной природе. Данные геномики показывают, что ботаники недооценивали роль межвидовой гибридизации и полиплоидии в эволюции растений. Оказалось, что представители всех филогенетических ветвей цветковых растений прошли через несколько раундов полногеномной дупликации, сопровождавшей акты межвидовой гибридизации.

Геномы гибридов и неополплоидов нестабильны. В них часто наблюдается экспансия транспозонов, потеря значительной части генов, изменения активности генов, изменение паттерна сплайсинга некоторых из дублицированных генов, транслокации между субгеномами. Хромосомы одного из родителей могут теряться или замещаться гомеологичными хромосомами другого родителя.

Постепенная утрата части генов и хромосом одного из субгеномов неополплоида стабилизирует геном. На этой стадии кариотип выглядит как кариотип типичного полиплоида (эуполплоида). Постепенно кариотип перестраивается, идет процесс диплоидизации. Смотря на кариотип *Zingeria beibersteiniana* с  $2n = 4$ , трудно себе представить, что этот геном прошел через 4-5 событий полногеномных дупликаций.

Достигшие уровня эуполплоида или уровня палеополплоида растения вновь вступают в гибридизацию, и цикл может повториться вновь. По всей видимости, всплеск изменчивости в период «геномного шока» является тем этапом, на котором возникают те новые состояния генома, транскриптома, протеома, метаболома и кариотипа. Эти изменения определяют, обречены ли носители именно этих геномов в складывающихся экологических условиях на судьбу эволюционно-стазисной филогенетической ветви или среди их потомков пойдут активные процессы адаптивной радиации и таксонообразования с некоторой вероятностью связанного с достижением принципиально нового состояния фенотипа (специфического комплекса морфологических и физиологических признаков, характерных, скажем, для семейства).

Благодарности: Отдельные разделы работы, вошедшие в доклад, выполнены в рамках программы Президиума РАН 1.2.41 «Биоразнообразие природных систем и биологические ресурсы России» и грантов РФФИ 17-00-0037-17-00-00340, 18-04-01040.

## EVOLUTIONAL AND ECOLOGICAL ROLE OF APOMIXIS AND ASEXUAL REPRODUCTION

Brukhin V<sup>1</sup>., Bakin E<sup>1</sup>., Rayko M<sup>1</sup>., Smetanin D.<sup>3</sup>, Mitchell-Olds T<sup>4</sup>., Grossniklaus U<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Dobzhansky Center for Genome Bioinformatics, St. Petersburg State University, 41 Sredniy Prospekt, Vasilievsky Island, St. Petersburg 199004, <sup>2</sup> Department of Plant Embryology & Reproductive Biology, Komarov Botanical Institute Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 197376 Russia., <sup>3</sup> Department of Plant & Microbial Biology Zurich-Basel Plant Science Center, University of Zurich, Zollikerstrasse 107, 8008 Zurich, Switzerland, <sup>4</sup> Department of Biology, Duke University, Durham NC 27708-0338 NC, USA.

Closely related to the model plant *Arabidopsis thaliana*, the genus *Boechera* is known to contain both sexual and apomictic species or accessions that grow in agamic complexes. The genome of *Boechera retrofracta* a diploid sexually reproducing species, which is thought to be an ancestral parent species of apomictic accessions after WGS study revealed a low level of heterozygosity and the presence of detectable duplications and triplications vs genomes of the apomictic accessions *B. divaricarpa*. Genes of *B. retrofracta* and 6 other Brassicaceae species were used for phylogenetic tree reconstruction. Also, we explored the histidine exonuclease *APOLLO* locus, related to apomixis in *Boechera* sexual and apomictic species, and proposed model of its evolution through the series of duplications. *APOLLO* phylogenetic tree reconstruction based on the orthologs of this gene in other species showed that there are the three copies associated with clusters of orthologous genes. The branch leading to the apo-alleles is under the positive selection, which is typical for paralogues that are required to serve a novel function. Phylogeny of the other apomixis associated genes has been analyzed as well. Moreover, chloroplast (cp) DNA of *Boechera divaricarpa* was assembled and annotated, which allowed to identify the trnL intron + trnL/F IGS. Based on this system a cp phylogenetic tree was reconstructed. It was shown that *B. divaricarpa* falls in lineage III of the trnL intron + trnL/F IGS classification.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАСПОЗНАВАНИЯ ПАТОГЕНОВ РОДА *PECTOBACTERIUM* РАСТЕНИЯМИ СЕМЕЙСТВА ПАСЛЕНОВЫЕ

Колубако А.В.<sup>1</sup>, Бадалян О.А.<sup>1</sup>, Николайчик Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Республика Беларусь, Минск, пр. Независимости, 4;

[kolubakoav@yandex.by](mailto:kolubakoav@yandex.by)

К семейству Пасленовые принадлежат важнейшие сельскохозяйственные культуры, а фитопатогены из рода *Pectobacterium* являются основной причиной бактериозов многих из них, и в первую очередь картофеля, потери урожая которого, связанные с пектобактериями, при неблагоприятных условиях могут достигать 50%. Устойчивых к пектобактериям сортов картофеля на данный момент не существует, поэтому важной задачей является создание устойчивых к бактериозам сортов, для чего требуется понимание механизмов распознавания пектобактерий растениями. Наша работа направлена на выявление продуцируемых пектобактериями индукторов растительного иммунитета и расшифровку сигнальной цепочки, ответственной за активацию защитных реакций как культурных (картофель, томат), так и модельных (*Nicotiana benthamiana*) растений.

Традиционно считается, что гидролитические экзоферменты (пектиназы, целлюлазы и протеазы) являются основными факторами вирулентности пектобактерий, однако в условиях наших экспериментов не удалось связать разрушение клеточной стенки растений с активацией конкретных сигнальных путей. В частности, сайленсинг рецепторов олигогалактуронатом из семейства WAK не оказывает существенного влияния на взаимодействие растений с пектобактериями. С другой стороны, группа рецепторных киназ подсемейства LRRIII очевидно участвует в распознавании пектобактерий: как минимум две киназы этого подсемейства, RLK2 и RLK5, непосредственно взаимодействуют с эффектором пектобактерий DspE и необходимы для развития реакции сверхчувствительности. Показано также участие в детекции пектобактерий киназы TPK1b и MAP-киназ SIPK и WIPK. Выяснено, что сигнальные белки RAR1, EDS1 и рецепторы FLS2 и BAK1 не участвуют в обнаружении патогенов растением (последние - по причине отсутствия жгутиков у использованного штамма патогена). Установлено участие в иммунном ответе сигнального белка NDR1, а также компонента шаперонного комплекса SGT1, что предполагает регуляцию через сигнальный белок CC-NB-LRR-типа.

Данные по экспрессии компонентов иммунной системы растений картофеля при их заражении пектобактериями показали активное подавление патогеном экспрессии некоторых рецепторных протеинкиназ и сигнальных путей, связанное с транспортом эффекторных белков патогена в клетки растений с помощью системы секреции III типа. В докладе будет представлен анализ этих данных в контексте возможностей для повышения устойчивости растений к пектобактериальной инфекции.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *CLE* У КАРТОФЕЛЯ

Ганчева М.С., Полюшкевич Л.О., Додуева И.Е., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский Государственный Университет, Россия, Санкт-Петербург,  
Университетская наб. 7/9

[ganchovai@gmail.com](mailto:ganchovai@gmail.com)

Картофель является важнейшей сельскохозяйственной культурой, занимающей первое место среди незерновых культур. Клубни картофеля представляют собой видоизменённые укороченные подземные побеги, развитие которых связано с деятельностью различных меристем: апикальной меристемы побега, камбия и перимедуллярной зоны. Кроме того, известно, что развитие клубня картофеля зависит от факторов внешней среды – в частности, высокое содержание азота в среде задерживает клубнеобразование. В настоящее время генетический контроль клубнеобразования у картофеля изучен слабо. Пептидные гормоны *CLE* являются универсальными регуляторами развития различных типов меристем, таких как апикальные меристемы побега и корня, камбий, а также меристемы, развивающиеся при растительно-микробных взаимодействиях (клубеньки и галлы). Помимо этого, пептиды *CLE* участвуют в реакции растения на факторы окружающей среды: у *Arabidopsis thaliana* экспрессия некоторых *CLE* (*CLE 1*, -3, -4, и -7) индуцируется нехваткой азота в корнях. Так как развитие клубня картофеля зависит от активности меристем, а также от количества азота в среде, то было логично предположить участие пептидов *CLE* в формировании клубня картофеля. Мы идентифицировали 22 гена *StCLE*; с помощью количественного анализа их экспрессии в различных частях клубня картофеля среди них были выявлены кандидаты на роль регуляторов клубнеобразования. В частности, предполагаемыми регуляторами клубнеобразования являются гены *StCLE8* и *StCLE12*, уровни экспрессии которых повышаются при утолщении клубня, при этом уровень экспрессии *StCLE8* повышается в перимедуллярной зоне, от пролиферации клеток которой зависит рост клубня. Ген *StCLE8* является гомологом *CLE41 Arabidopsis thaliana* – ключевого регулятора деления камбия. Предполагаемыми регуляторами ответа на содержание азота в среде являются гены *StCLE10*, *StCLE11*, *StCLE24*, гомологи *CLE 1*, -3, -4, и -7 *Arabidopsis thaliana*: уровень их экспрессии возрастает при пересадке растений картофеля на среды с различной концентрацией нитрата калия. Нами начата работа по изучению сверхэкспрессии этих генов на развитие картофеля.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-34-00020

## НОВЫЕ АСПЕКТЫ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНА *PPD-1* МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ И ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Киселёва А.А.<sup>1</sup>, Салина Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Россия, г.Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева 10

[antkiseleva@bionet.nsc.ru](mailto:antkiseleva@bionet.nsc.ru)

Адаптация мягкой пшеницы к широкому спектру климатических условий во многом стала возможной благодаря варьированию такого важного признака, как время колошения.

В данное исследование были взяты две пары почти изогенных линий, полученных от скрещивания рано переходящего к колошению сорта Sonoga и поздно переходящей к колошению линии ФЧЛ2. С помощью SSR-маркирования был выявлен локус на хромосоме 2В, ассоциированный с изучаемым признаком. Более детальный анализ показал, что ген *PPD-1*, являющийся одним из наиболее значимых регуляторов цветения пшеницы, находится в данном локусе и детерминирует различия линий по фенотипу. Секвенирование данного гена позволило выявить инсерцию/делецию и несколько SNP, отличающих изучаемый аллель от других доминантных аллелей. Методом количественного ПЦР было установлено, что нечувствительный к фотопериоду *Ppd-1a<sup>cmv</sup>* характеризуется увеличенным числом копий.

Одним из нерешенных вопросов на сегодняшний день остается вопрос регуляции экспрессии аллеля *Ppd-1a<sup>cmv</sup>* с увеличенным числом копий. В результате биоинформатического анализа промоторных областей генов *PPD-1*, предложен механизм модуляции экспрессии аллеля *Ppd-1a* с увеличенным числом копий гена с участием транскрипционных факторов MADS-box.

Для анализа взаимодействия генов, контролирующих время колошения, с использованием модели почти изогенных линий и их родительских форм, был проведен анализ паттернов суточной экспрессии генов *PPD-1* вместе с генами, вовлеченными в восприятие света (*PHYA*, *PHYB*, *PHYC*), и переход к цветению (*VRN-1*, *TaFT1*) и рассмотрены их взаимодействия. По результатам осуществленных в данной работе анализа корреляций паттернов экспрессии, и анализа промоторов *in silico*, впервые сделано предположение о возможном позитивном влиянии нечувствительного к фотопериоду *Ppd-1a* на экспрессию *PHYC* в ночное время. Эту гипотезу подтверждают данные об увеличении количества белка фитохрома у линий с доминантными *PPD-1* аллелями.

## Симпозиум XI: Мутации, рекомбинация, репарация / Symposium XI: Mutations, DNA repair and recombination

### СВЯЗЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ С ПАРАМЕТРАМИ СПОНТАННОГО И ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАГЕНЕЗА В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Васильев С.А.

НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, г. Томск, ул. Набережная р. Ушайки, 10  
[stanislav.vasilyev@medgenetics.ru](mailto:stanislav.vasilyev@medgenetics.ru)

Стабильность генома различна для разных стадий онтогенеза, что может объясняться участием в ее регуляции эпигенетических факторов. Целью настоящего исследования являлось выявление связи эпигенетической организации генома со спонтанным и индуцированным уровнем хромосомных нарушений в соматических клетках человека. Проверялись гипотезы о связи гипометилирования ретротранспозона LINE-1 с повышением частоты хромосомных aberrаций и влияния повышенного спонтанного уровня фокусов  $\gamma$ H2AX на эффективность репарации радиационно-индуцированных двунитевых разрывов ДНК. Верность выдвинутых гипотез проверялась в соматических клетках человека на двух этапах онтогенеза: в экстраэмбриональных тканях эмбрионов человека и лимфоцитах взрослых индивидов.

Обнаружены следующие особенности влияния эпигенетических факторов на мутагенез в соматических клетках человека. Гипометилирование генома связано с повышенной спонтанной частотой анеуплоидии в экстраэмбриональных тканях внутриутробно погибших эмбрионов человека ( $R=-0,53$ ,  $p=0,011$ ) с нормальным хромосомным набором и с частотой микроядер в лимфоцитах на постнатальном этапе онтогенеза ( $R=-0,35$ ,  $p=0,031$ ). Снижение уровня глобального метилирования генома в лимфоцитах ассоциировано с повышением числа двунитевых разрывов ДНК в S- и G2-фазах клеточного цикла, репарируемых гомологичной рекомбинацией, только при хроническом воздействии радиации, но не при спонтанном мутагенезе. Спонтанный уровень фокусов гистона  $\gamma$ H2AX обратно пропорционален частоте хромосомных нарушений после воздействия радиации в лимфоцитах *in vivo* ( $R=-0,85$ ,  $p=0,0008$ ) и *in vitro* ( $R=-0,37$ ,  $p=0,025$ ). В результате полнотранскриптомного анализа выявлены гены *ADAMTS1*, *RBFOX2*, *WHSC1* и *THBS1*, дифференциальная экспрессия которых связана с уровнем хромосомных нарушений. Участие выявленных генов в ответе на повреждение ДНК и обеспечении выживаемости клеток доказано в модельных нокаутных клеточных линиях, полученных с помощью технологии CRISPR/Cas9. Выявленные гены могут быть использованы в дальнейшем при разработке методов персонализированной лучевой терапии. Таким образом, были получены свидетельства в пользу обеих выдвинутых гипотез о связи компонентов эпигенетического фона (метилирования LINE-1 и спонтанного уровня фокусов  $\gamma$ H2AX) со спонтанным и индуцированным мутагенезом в соматических клетках человека.

**Благодарности:** Данная работа проведена при поддержке грантов Президента РФ № МК-14.122.13.6806 и № МК-5944.2018.4, стипендии Президента РФ № СП-3647.2015.4, грантов РФФИ № 14-04-01003 и № 16-34-50178.

## REGULATION OF BASE EXCISION REPAIR IN RESPONSE TO DNA DAMAGE

Dianov G.L.

*MRC-CRUK Oxford Institute for Radiation Oncology, Department of Oncology, University of Oxford, United Kingdom; Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation; Institute of Cytology & Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation*  
[grigoryldianov@gmail.com](mailto:grigoryldianov@gmail.com)

Base excision repair is a frontline DNA repair system responsible for maintaining genome integrity, thus preventing many human diseases including cancer, by repairing DNA base lesions and single strand breaks (SSBs) caused by endogenous and exogenous mutagens such as ionizing radiation. SSB repair is critical because, if left unrepaired, cells would terminate gene transcription and upon replication, generate toxic DNA double strand breaks (DSBs) leading to accumulation of mutations and tumorigenesis. To prevent the formation of DSBs, SSB repair must be completed prior to DNA replication. To accomplish this, cells should be able to detect unrepaired SSBs, and delay cell cycle progression to allow more time for repair. We found that Ataxia Telangiectasia Mutated kinase (ATM) plays a major role in restricting the replication of SSB-containing DNA and therefore preventing DSB formation. We show that ATM is activated by SSBs and coordinates their repair with DNA replication. Following ionizing irradiation of cells, activated ATM phosphorylates and activates protein phosphatase PPM1G which, in turn, dephosphorylates deubiquitylation enzyme USP7 leading to USP7 degradation, followed by Mdm2 down-regulation and accumulation of p53. SSB-mediated ATM activation and accumulation/activation of p53 is followed by a G1 cell cycle delay that allows more time for repair and thus prevents the replication of damaged DNA and DSB accumulation. We also find that defective BER leads to accumulation of persistent DNA strand breaks and hyperactivation of ATM which phosphorylates transcription factor Sp1 at serine 101, initiating its proteasomal-dependent degradation. We also find that Sp1 controls the expression of the key BER gene XRCC1 and that degradation of Sp1 decreases DNA repair capacity and aggravates the load of DNA damage. Furthermore, we demonstrate that downregulation of Sp1 upon DNA damage primes cells to apoptosis and to elimination by natural killer (NK) cells. We thus proposed a novel mechanism that allows the detection of genetically unstable pre-cancerous cells and activates a pro-apoptotic response and leading to cell elimination via the innate immune system.

## РОЛЬ РЕПАРАЦИИ ДНК В ОБЕСПЕЧЕНИИ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА И ДОЛГОЛЕТИЯ

Лаврик О.И.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия,  
Новосибирск, пр-т Лаврентьева 8*

*lavrik@niboch.nsc.ru*

Ансамбли белков, осуществляющие репарацию ДНК, играют ключевую роль в сохранении генетической информации, исправляя повреждения ДНК, вносимые различными факторами окружающей среды и агентами эндогенного происхождения. В процессе эволюции возникло несколько эффективных специализированных систем, которые способны исправить любые повреждения в структуре ДНК. Дефекты в работе систем репарации ДНК приводят к появлению мутаций и, как следствие, вызывают тяжелые заболевания человека, в том числе являются причиной возникновения рака, нейродегенеративных заболеваний и старения.

В докладе будут представлены результаты исследований структурно-функциональной организации комплексов эксцизионной репарации оснований (ЭРО), обеспечивающей защиту от наиболее распространенных повреждений ДНК, вызываемых окислительным стрессом. С использованием оригинального подхода, основанного на получении флуоресцентно меченых белков, методов флуоресцентного титрования и динамического светорассеяния количественно исследованы белок-белковые взаимодействия в процессе ЭРО [1,2]. Охарактеризована прочность взаимодействий в ряде комплексов, образованных ДНК-полимеразой  $\beta$  (Pol $\beta$ ), апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазой 1, поли(АДФ-рибозо)полимеразой 1 (PARP1), белком XRCC1. Наиболее прочный комплекс, образуемый XRCC1 и Pol $\beta$ , рассматривается нами как устойчивая часть ансамбля, функционирующего в процессе ЭРО. Полученные данные указывают на существование комплекса ЭРО, формируемого ферментами и ключевыми регуляторными факторами – PARP1 и XRCC1. Эффективность этих взаимодействий модулируется специфическими белковыми доменами, ДНК-интермедиатами и поли(АДФ-рибозил)ированием. Полученные результаты значительно проясняют механизм функционирования «репарасомы» ЭРО высших эукариот. Повреждения ДНК являются сигналом для активации синтеза поли(АДФ-рибозы), катализируемого PARP1/2. Будет рассмотрена роль PARP1 и PARP2 в регуляции процессов репарации ДНК и взаимодействие этих белков с поврежденными ДНК, с белками систем репарации ДНК, а также обсуждены новые белковые мишени поли(АДФ-рибозил)ирования. Ключевая роль PARP1 в регуляции процессов метаболизма ДНК позволила создать препараты для лечения онкозаболеваний на основе ингибиторов этого фермента.

Будут представлены результаты исследования активности систем репарации ДНК в клетках долгоживущего организма – голого землекопа (*Heterocephalus glaber*) и обсуждена связь процессов репарации ДНК с продолжительностью жизни [3].

[1] Moor et al. Quantitative characterization of protein-protein complexes involved in base excision DNA repair. // 2015, Nucleic Acids Res. V. 43, P. 6009-6022.

[2] Vasil'eva et al. Dynamic light scattering study of base excision DNA repair proteins and their complexes. // 2018, Biochim Biophys Acta Proteins Proteom. pii: S1570-9639(18)30178-X.

[3] Evdokimov et al. Naked mole rat cells display more efficient excision repair than mouse cells. // 2018, Aging. V. 10, P. 1454-1473.

**Благодарности:** Работа поддержана грантами РФФ (19-14-00107) и РФФИ (17-04-00925).

## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ БЕЗОШИБОЧНОЙ ВЕТВИ ПОСТРЕПЛИКАТИВНОЙ РЕПАРАЦИИ.

Королев В.Г.

ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ), Россия, Гатчина, 188300; Орлова роца

[Korolev\\_vg@pnpfi.nrcki.ru](mailto:Korolev_vg@pnpfi.nrcki.ru)

Эффективная и точная репарация ДНК является важным процессом для поддержания стабильности генома клетки. Активно делящиеся клетки в ответ на повреждения генома используют в первую очередь репарационные системы, которые удаляют повреждения ДНК во всех ее участках. Однако из-за хроматиновой структуры генома эукариот значительная часть повреждений ДНК остается unrepaired. Повреждения ДНК, которые остались неликвидированными перед входом в S-фазу клеточного цикла, представляют серьезную проблему в течение репликации, поэтому в процессе эволюции клетки выработали уникальную систему толерантности к повреждениям ДНК. В эукариотах толерантность к повреждениям обычно называют пострепликативной репарацией (ППР), которая контролируется RAD6-эпистатической группой генов. Прогрессия вилки репликации требует репраймирования лидирующей вилки за повреждением, что облегчается разобщением раскручивания и синтеза ДНК. В результате происходит образование онДНК ключевого интермедиата толерантности к повреждениям ДНК.

Генетические исследования на модели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* показали, что ППР разделяется на два конкурирующих пути – ошибочную и безошибочную ветви репарации. Первый путь связан с синтезом ДНК через повреждение, при этом напротив повреждения встраивается случайный нуклеотид, что является основным источником мутагенеза. Безошибочная ветвь ППР использует сестринскую нить ДНК для безошибочного обхода повреждения с помощью рекомбинационного механизма. Условия, которые определяют выбор пути ППР, до сих пор не выяснены. Эксперименты на дрожжах выявили две группы генов - RAD52- и RAD5-зависимые, которые активно вносят вклад в заполнение гэпов после УФ облучения. RAD52-зависимый путь контролирует процесс гомологичной рекомбинации. Недавно было показано, что Rad5 может осуществлять инвазию нитей и образование D-петель *in vitro*, подтверждая способность инициировать переключение матриц.

В нашей лаборатории с помощью прямого скрининга были выделены уникальные мутанты дрожжей, отличающихся повышенным индуцированным мутагенезом. Эпистатический анализ этих мутантов показал, что они относятся к безошибочной ветви ППР, а именно к RAD5-зависимому пути. Изучение взаимодействия этих генов с генами, контролирующими рекомбинационный процесс показало, что на начальной стадии RAD5-пути действует белковый комплекс MRE11, который способен освобождать и процессировать 3'-концы нитей ДНК. Совсем недавно этот результат был подтвержден в зарубежных лабораториях, где было показано, что комплекс MRE11 освобождает 3'-конец вновь синтезированной нити ДНК из заблокированной вилки репликации. В тоже время сами изучаемые гены влияют на стабильность D-петельных структур ДНК, возникающих в результате переноса освобожденного 3'-конца в сестринскую хроматиду. Дальнейшее изучение наших мутантов с наиболее выраженным мутаторным фенотипом, показало, что продукты, контролируемые ими генов, имеют также отношение к формированию структуры хроматина и ее динамике.

## MECHANISMS FOR CHROMOSOMAL BREAKAGE AND INVERTED DIMER FORMATION INDUCED BY PALINDROMIC REPEATS

Lobachev K.S.<sup>1</sup>, Sheng Z.<sup>1</sup>, Guo W.<sup>1</sup>, Costa A.<sup>1</sup>, Ait Saada A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Georgia Institute of Technology, USA, Atlanta, 310 Ferst Drive, 30332

[kirill@gatech.edu](mailto:kirill@gatech.edu)

Palindromic sequences that can adopt hairpin and cruciform structures are a potent source of chromosomal breakage and gross chromosomal rearrangements (GCRs) in many eukaryotic organisms including humans. Using yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, we uncovered several mechanisms of palindrome-induced breakage and resulting chromosomal instability. First, hairpin structures formed during DNA replication are cleaved by the Mre11/Rad50/Xrs2 and Sae2 proteins. This breakage leads to the fork collapse and the initiation of break-induced replication using undamaged sister-chromatid as a template. Interestingly, this long-ranged repair is accurate, leads to the restoration of palindromes and does not cause GCRs. Second, resolution of cruciforms formed at G2 stage of the cell cycle leads to the formation of hairpin-capped breaks that give rise to acentric and dicentric inverted dimers, the latter are a potent source of GCRs. We found that the formation of inverted dimers and resulting rearrangements depends on the activity of Cdc20 kinase. G2 double strand breaks (DSBs) are partially created by Mus81/Mms4 nuclease which specifically targets actively-transcribed palindromes. However, we detect robust DSB formation that is channeled to GCRs at all types of palindromic sequences in cells lacking MRX/Sae2, Mus81/Mms4, Yen1, Slx1/Slx4 as well as other known structure-specific DNA nucleases. This pathway for palindrome fragility is controlled by the Lsm2-8 complex and the Cdc28 kinase. Overall, our data indicate that there are three distinct pathways by which secondary structures can initiate DSBs and promote chromosomal instability, one of which involves an unknown eukaryotic nuclease.

**Acknowledgements:** This work was supported by NIH, R01GM129119

## ДЕФЕКТЫ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ КАК ИСТОЧНИК ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В РАКОВЫХ ОПУХОЛЯХ ЧЕЛОВЕКА

Щербакова П.В.

The fidelity of DNA replication relies on three error avoidance mechanisms acting in series: nucleotide selectivity of replicative DNA polymerases, exonucleolytic proofreading, and post-replicative DNA mismatch repair (MMR). MMR defects are well known to be associated with increased cancer incidence. In the past seven years, advances in DNA sequencing technologies led to a discovery of replicative DNA polymerase defects in cancers with an extremely high mutation load. The polymerase mutations preferentially affect conserved amino acid residues in the exonuclease domain. Thus, a concept has formed that defective proofreading of replication errors triggers the development of ultramutated tumors. However, recent studies of the most common DNA polymerase variants suggested that their pathogenicity is determined by functional alterations other than loss of proofreading. We will provide an overview of the consequences of DNA polymerase mutations in cancers, the mechanisms of their mutator effects, and likely explanations for a high recurrence of some but not other polymerase variants. We will also discuss therapeutic implications of DNA polymerase deficiency.

## ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ КРОССОВЕРНЫХ ОБМЕНОВ: РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ, КОИНЦИДЕНЦИЯ ГЕРМАНА МЁЛЛЕРА И НОВОСТИ 103 ГОДА СПУСТЯ.

Михайлова Е.И.

Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им.Н.И.Вавилова РАН

Россия, Санкт-Петербург, 199034 Университетская наб., д.7/9

[ei\\_mikhailova@mail.ru](mailto:ei_mikhailova@mail.ru)

Распределение хиазм в разных хромосомах и по длине отдельной хромосомы неслучайно. Во-первых, всегда есть так называемая обязательная хиазма, отражающая необходимость обмена между гомологичными хромосомами для успешного осуществления мейоза; во-вторых, если в биваленте присутствуют две или более хиазм, то нахождение их рядом друг с другом маловероятно, то есть имеет место “интерференция”. Впервые интерференция была обнаружена у *Drosophila melanogaster* при изучении частот множественных событий кроссинговера в генетическом анализе. Наличие интерференции означает, что двойные обмены происходят реже, чем ожидается на основании частот одиночных (H.Muller, 1916). Зависимость интерференции от синапсиса хромосом была положена в основу гипотезы, сформулированной в 1970-х годах и базировавшейся на экспериментальных данных, полученных на кукурузе. В соответствии с несколькими моделями, интерференция опосредована «застегиванием» структуры синаптонемного комплекса (СК) или передачей через него ингибирующего сигнала от одного сайта кроссинговера к соседним потенциальным сайтам. Отсутствие интерференции, позже выявленное в генетических экспериментах у *Schizosaccharomyces pombe* и *Aspergillus nidulans*, а также у zip1 мутанта *Saccharomyces cerevisiae*, не образующих СК в профазе I мейоза, подтвердило справедливость этих моделей. Эксперименты с *S.cerevisiae* показали, что в сайтах кроссинговера начинает образовываться СК и запускается механизм интерференции. Белковые комплексы инициации синапсиса (SICs) соответствуют поздним мейотическим узелкам (LNs), участвующим в созревании двунитевых разрывов (DSBs) в кроссоверы. LNs, видимые в пахитене, соответствуют сайтам кроссинговера и проявляют интерференцию. Ранние мейотические узелки (ENs) в зиготене не проявляют интерференции и число их выше. Таким образом представления об интерференции в последние десятилетия стали основываться как на результатах генетического анализа, так и на цитологических данных. Синаптические мутации *msh4*, *ndj1* у *S.cerevisiae*, приводят к нарушению кроссоверной интерференции, определяемой генетически, но не нарушают интерференцию, выявляемую цитологическими методами. Данные, полученные на *Drosophila*, также подтверждают, что СК не нужен для интерференции, поскольку у мутанта с(3)G, дефектного по СК и по белку, структурно похожему на Zip1, кроссоверная интерференция сохраняется. Развитие методов протеомики и молекулярной цитогенетики создало новые возможности для анализа синапсиса, рекомбинации и интерференции.

## EVOLUTION OF RECOMBINATION FEATURES: NUMERICAL MODELS AND EXPERIMENTS WITH *DROSOPHILA*

Rybnikov S.R.<sup>1,#</sup>, Aggarwal D.D.<sup>1,#</sup>, Frenkel Z.M.<sup>1</sup>, Rashkovetsky E.<sup>1</sup>, Michalak P.<sup>2</sup>, Korol A.B.<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>University of Haifa, Israel, Haifa, 199 Aba-Hushi Avenue; <sup>2</sup>Edward Via College of Osteopathic Medicine, USA, Blacksburg VA, 2265 Kraft Drive. #equal first co-authorship  
[korol@evo.haifa.ac.il](mailto:korol@evo.haifa.ac.il)

Recombination's omnipresence in nature is hard to explain. Numerous hypotheses highlight its potential evolutionary advantages, which may outbalance its drawbacks. The plausibility of these hypotheses is more or less confirmed in theoretical models, although it remains unclear to what extent the model predictions hold in nature. Yet, recombination does not just exist – it displays a set of essential features, such as crossover interference, sex differences in recombination rates (RR), ecological plasticity, dominance of recombination modifiers, etc. Some of them (e.g., interference and sex differences) are well recognized, while others (e.g., condition-dependence) still lack empirical evidence. As for the evolution of recombination features, the whole question remains extremely underexplored and poorly understood.

In our experiments with *Drosophila*, directional selection on an adaptive trait, desiccation tolerance, led to indirect selection on higher RRs. Moreover, positive crossover interference often tended to relax, further increasing the number of crossover events (up to the appearance of negative interference). Additional tests on the same material showed ecological plasticity of both RRs and crossover interference with respect to desiccation stress. Moreover, desiccation-induced changes in both parameters were to a certain extent modulated by desiccation tolerance (a measure for genotype fitness), so that fitter genotypes showed lower, if any, reactivity of recombination.

Our theoretical studies confirmed that condition dependence of RR (including its dependence on ecological stressors and genotype fitness) can be evolutionary advantageous in different population-genetics models (cyclical selection, mutation-selection balance and Red Queen dynamic caused by antagonistic interspecific interactions). Not rarely, condition-dependent recombination was favoured in situations in which any non-zero constant RR was rejected, which allows viewing condition dependence as an "evolutionary rescue" for recombination. In our simulations, recombination-modifier allele for the favourable RR tended to become dominant (at least in situations with constant recombination strategies). Sometimes, the selected system demonstrated two alternative stable states, differing both in favourable RR and in dominance of the corresponding recombination-modifier allele. At that, what affected the 'attraction' potential of these states was crossover interference.

## GENETIC INSTABILITY ASSOCIATED WITH BREAK-INDUCED REPLICATION

Malkova A.<sup>1</sup>, Osia B.<sup>1</sup>, Kockler Z.<sup>1</sup>, Elango R.<sup>1</sup>, Oliveira S.<sup>2</sup>, Comeron J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, University of Iowa, Iowa City, IA

<sup>2</sup>Department of Computer Science, University of Iowa, Iowa City, IA

[anna-malkova@uiowa.edu](mailto:anna-malkova@uiowa.edu)

Mutations and Gross chromosomal rearrangements (GCR) are a hallmark of cancer and other diseases. Recent studies suggested that genetic instabilities often result from DNA synthesis associated with repair of double-strand breaks (DSBs). Break-Induced Replication (BIR) is a DSB repair pathway responsible for the repair of one-ended DSBs, including those resulting from replication fork collapse or telomere erosion. Using our yeast experimental system, we have previously demonstrated that an HO-induced DSB introduced at *MATa*, located in a truncated copy of chromosome III, leads to efficient BIR that proceeds via invasion of the broken end into intact copy of chromosome III followed by DNA synthesis continuing for 100kb. Instead of a normal replication fork, BIR is carried out by a migrating bubble proceeding with asynchrony between leading and lagging strand synthesis and results in conservative inheritance of newly synthesized DNA.

This unusual type of DNA synthesis is highly mutagenic. In addition, when BIR proceeds in the presence of alkylating damage in yeast, nearly half of BIR outcomes form long mutation clusters in the chromosomal region involved in BIR. These outcomes in yeast closely resemble regions of *kataegis* described in human tumors, suggesting that BIR may be a source of mutation clusters across species. In addition, because it is known that APOBEC enzymes, a group of cytidine deaminases that target cytosines in ssDNA, promote *kataegis* in mammals, we tested the effect of APOBEC on BIR-induced mutagenesis. Here we report that expression of APOBEC3A (A3A), during BIR in yeast resulted in 80-fold increase in BIR-associated mutations.

Furthermore, we present the results of our investigation of the microhomology-mediated break induced replication (MMBIR) pathway that contributes to a variety of human diseases. Here we present the results of our recent analysis where we use the signatures of MMBIR events that we described in yeast to detect unselected MMBIR events throughout the human genome. Strikingly, our preliminary results demonstrate that MMBIR events are significantly more frequent in cancer genomes, when compared to their matched normal-tissue controls. Finally, the results of our recent analysis of the role of BIR in alternative lengthening of telomeres (ALT) will be presented. The effects of various mutations affecting BIR on the frequency and mechanism of ALT will be discussed.

## ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УЧАСТИЯ ГЕНА *dRsf-1* В РЕПАРАЦИИ ДНК

Ильина Ю. А.<sup>1</sup>, Голубев А. М.<sup>1</sup>, Конев А. Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, Россия, Гатчина, Орлова роща д. 1

[ilina\\_ya@npri.nrcki.ru](mailto:ilina_ya@npri.nrcki.ru)

В эукариотической клетке репарационные комплексы устраняют ДНК-повреждения совместно с комплексами, преобразующими хроматин. Преобразования хроматина необходимы для сигнализации о повреждении, обеспечения его доступности для репаративных ферментов и на завершающем этапе репарации. В случае двунитового разрыва (ДР) ДНК происходит каскад реакций: модификация гистонов (фосфорилирование, метилирование, ацетилирование и др.) и изменение плотности хроматина. Передвижение нуклеосом необходимо для освобождения ДНК, фланкирующей разрыв. При этом далее хроматин локально уплотняется, его убиквитинилирование затем станет платформой для сборки репаративных комплексов. На завершающем этапе репарации ДР ДНК необходимо восстановление нуклеосомной структуры. Передвижение нуклеосом требует энергии АТФ и осуществляется АТФ-зависимыми хроматин ремоделирующими факторами (ХРФ). Из клеток человека был выделен хроматинремоделирующий комплекс RSF (*Remodeling and Spacing Factor*), состоящий из двух субъединиц: RSF1 и SNF2H, гомолога белка ISWI дрозофилы. Сверхэкспрессия *RSF1* была обнаружена в различных линиях карцином, а также его связь с метастазированием и размером опухолей. Снижение уровня экспрессии *RSF1* вызывает УФ-, MMC- и гамма-чувствительность. RSF1 взаимодействует с ATM-зависимой киназой и гистоновыми шаперонами. *In vitro* комплекс RSF может осуществлять сборку протяженных нуклеосомных последовательностей. На клеточных линиях показано, что *RSF1* участвует в репарации ДР ДНК как по пути гомологичной рекомбинации, так и при непосредственном воссоединении разорванных концов. Он необходим в процессе убиквитинилирования и привлечения репарационных комплексов. В то же время, в литературе нет данных об эффектах мутаций *RSF1* на организменном уровне.

В настоящей работе на модели *Dr. melanogaster* были получены данные об участии RSF в репарационных процессах на разных стадиях развития многоклеточного организма. Мы показали, что делеционные мутанты *dRsf-1* на стадии 4-5 часового эмбриогенеза проявляют чувствительность только к УФ лучам. В эмбриогенезе мутанты *dRsf-1* не чувствительны к действию ионизирующего облучения, но наблюдаем мы ее на стадии поздней личинки. На личиночной стадии мутанты не чувствительны к MMC. Следовательно, нами впервые показана зависимость участия *dRsf-1* в репарации ДНК-повреждений от стадии развития организма.

## BRCA2: MOLECULAR MEDIATOR IN HOMOLOGOUS RECOMBINATION

Lada A.G.<sup>1</sup>, Kowalczykowski S.C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*University of California, Davis, USA, One Shields Ave, Davis, California, 95616, USA  
alada@ucdavis.edu; artem.g.lada@gmail.com*

Breast cancer is one of the major malignancies all over the world. Genomic instability that underlies the initiation and progression of breast cancer is often connected to the malfunction of tumor suppressor gene BRCA2. BRCA2 participate in a mostly error-free DNA repair pathway called homologous recombination (HR). HR repairs double-stranded breaks in DNA, collapsed replication forks, and interstrand cross-links. Multiple proteins participate in and regulate the HR process. The key intermediate in the HR mechanism is formation of RAD51 nucleoprotein filament, which is mediated by BRCA2 in higher eukaryotes, followed by strand invasion. This process is additionally modulated by RAD51 paralogs. In order to better understand the mechanism of stimulation and regulation of RAD51 filament formation by BRCA2 and RAD51 paralogs, we constructed and purified BRCA2 mutants and characterized them in biochemical and single-molecule assays. Our results shed light on the mechanisms of homologous recombination and tumor development.

**Acknowledgements:** This work is supported by Susan G. Komen postdoctoral fellowship to AGL and NIH R01 grant to SCK.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПРИОНОВ [*PSI*<sup>+</sup>] И [*PIN*<sup>+</sup>] ПРИВОДИТ К СНИЖЕНИЮ ЧАСТОТЫ ПРЯМЫХ МУТАЦИЙ *SAN*<sup>r</sup> И ЧАСТОТЫ НАРУШЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА, РЕГИСТРИРУЕМЫХ В АЛЬФА-ТЕСТЕ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Андрейчук Ю.В.<sup>1,2</sup>, Степченкова Е.И.<sup>1,2</sup>, Инге-Вечтомов С.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский Государственный университет,  
Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7/9;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института Общей Генетики РАН им. Вавилова,  
Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7/9

[yullinnabk@yandex.ru](mailto:yullinnabk@yandex.ru)

Прионные заболевания и амилоидопатии развиваются вследствие изменения нормальной пространственной укладки некоторых белков, что приводит к развитию нейродегенеративных симптомов. При анализе клеток мозга людей, страдающих амилоидопатиями, были обнаружены изменения генетического материала, включающие отклонения от нормального набора хромосом, окислительные повреждения, а также нарушения клеточного цикла. Повышенный уровень образования свободных радикалов, повреждающих ДНК, был обнаружен при исследовании трансгенных червей *C. elegans*, синтезирующих человеческий A $\beta$ <sub>1-42</sub> [1]. Было показано, что некоторые амилоиды способны связываться с тубулином, препятствуя сборке микротрубочек, и нарушая правильное расхождение хромосом в митозе.

Моделью для изучения прионов млекопитающих служит дрожжевой фактор [*PSI*<sup>+</sup>], прионизованная форма фактора терминации трансляции Sup35. Спонтанное превращение нативного белка Sup35 в прионную форму возможно в присутствии другого приона [*PIN*<sup>+</sup>], прионизованной формы продукта гена *RNQ1* с неизвестной клеточной функцией. Ранее мы исследовали эффект приона [*PSI*<sup>+</sup>] на стабильность генома с использованием альфа-теста. Показателем мутагенной активности изучаемого фактора в альфа-тесте служит повышение частоты возникновения незаконных гибридов, образовавшихся вследствие генетических повреждений, затрагивающих локус *MATa*. Штамм дрожжей, несущий прионную форму белка Sup35, показал снижение частоты «незаконной» гибридизации в 2 раза. Кроме того у штамма [*PSI*<sup>+</sup>] частоты потерь хромосом и генных мутаций снижены в 2 раза, и в 5 раз увеличена частота конверсии [2]. Мы обнаружили, что этот эффект проявляется в штамме, несущем одновременно оба приона [*PSI*<sup>+</sup>] и [*PIN*<sup>+</sup>], тогда как прионизация только Sup35 или Rnq1 не приводит к значительным изменениям в генетическом материале. Механизм влияния прионов на стабильность генома остается неизвестным и требует глубокого изучения.

[1]. Yatin S.M., Varadarajan S., Link C.D., Butterfield D.A., In Vitro and In Vivo Oxidative Stress Associated with Alzheimer's amyloid beta-peptide (1-42). // 1999, Neurobiol Aging, V. 20(3), P. 325-30.

[2]. Андрейчук Ю.В., Ширяева А.А., Жук А.С., Степченкова Е.И., Инге-Вечтомов С.Г., Влияние Прионизации Белка Sup35 [*PSI*<sup>+</sup>] на Частоту Генетических Нарушений, Учитываемых в Альфа-тесте у Дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. // 2015, ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА., 13, 4, стр. 22-24.

## КЛЕТОЧНО-ПОПУЛЯЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ В ОБНОВЛЯЮЩИХСЯ ТКАНЯХ

Кузин С.М., Богомолов Д.В.

*Первый МГМУ им. И.М.Сеченова, Россия, Москва, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2  
smkuzin@mail.ru*

В настоящее время хорошо изучены механизмы элиминации клеток с генетическими повреждениями, связанные с контрольными точками митотического цикла. Однако значительная часть мутантных клеток может сохранять жизнеспособность, преодолевать контрольные точки и неоднократно делиться [1]. Целью работы было исследование механизмов элиминации таких клеток.

**Материал и методы.** В обновляющихся тканях (эпителий пищевода, красный костный мозг) у грызунов изучены закономерности кинетики клеток в норме и после сильного мутагенного воздействия тиофосфамидом в дозе 1,5 мкг на 1 г массы тела. Для изучения параметров пролиферации клеток животным вводили <sup>3</sup>H-тимидин или 5-бромдезоксисуридин. Показатели генетических нарушений в клетках определяли на цитогенетических препаратах по количеству aberrаций хромосом и сестринских хроматидных обменов.

**Результаты.** При сильном мутагенном воздействии во всех клетках возникают генетические нарушения, значительно превышающие спонтанный (контрольный) уровень. Кинетика выживших мутантных клеток, сохранивших способность к пролиферации, существенно изменяется. Они медленнее проходят митотический цикл, причем задержка прямо пропорциональна количеству генетических нарушений (aberrаций хромосом). В эпителии пищевода “медленные” клетки, делящиеся на спаде митотической активности в циркадианном ритме, имеют значительно большую вероятность изменить свое расположение в структуре ткани – перейти из базального в шиповатый слой. Такие клетки неизбежно вступают в терминальную дифференцировку и в последующем элиминируются из ткани. По нашим данным, одним из возможных механизмов изменения пространственного расположения “медленных” клеток в структуре органа может быть изменение ориентации оси митоза относительно базальной мембраны.

**Выводы.** Циркадианные ритмы пролиферации, характерные для всех обновляющихся тканей организма, играют определяющую роль в поддержании генетического гомеостаза, позволяя элиминировать асинхронные (медленные) клетки с генетическими нарушениями. Такие клетки вытесняются из пространственной ниши, занимаемой стволовыми клетками, дифференцируются и в последующем удаляются из клеточной популяции. Механизм элиминации мутантных стволовых клеток посредством дифференцировки, в отличие от механизма контрольных точек, позволяет на некоторое время сохранить их жизнеспособность и возможность ограниченной пролиферации, что повышает устойчивость организма к мутагенным воздействиям.

[1]. Стукалов С.В., Кузин С.М., Способность клеток с нерепарированными повреждениями ДНК и хромосом преодолевать контрольные точки митотического цикла. 2015, Медицинская генетика, Т. 14, № 4, С. 21.

**Симпозиум XII: Симбиогенетика и метагеномика / Symposium XII:  
Symbiogenetics and Metagenomics**

**APPS AND OPERATING SYSTEMS: THE ORGANISATION OF  
BACTERIAL GENOMES AND SPECIES**

Peter J., Young W.

*Department of Biology, University of York, York, UK*

Bacterial genomes have two parts: a core genome that is shared by all members of a species and is concerned with housekeeping functions, and an accessory genome of variable composition that encodes specialised adaptations. Core genes are carried on the chromosome or on chromids, which are plasmids that have become chromosome-like. Accessory genes are organised in small modules and carried on genomic islands or plasmids. The core genome resembles the operating system of a smartphone, while the accessory modules are apps, and strains within a species vary greatly in the set of apps that they carry. As a result, identifying a strain to species gives only a very partial indication of its potential functions.

These ideas will be illustrated by our work on rhizobia. The genes for nodule formation and for nitrogen fixation form two interacting apps that have a long history of horizontal transfer. Are they typical representatives of the wider accessory gene pool?

## МИКРООРГАНИЗМЫ ПОДЗЕМНОЙ БИОСФЕРЫ: ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ЭВОЛЮЦИЯ И БИОГЕОХИМИЧЕСКАЯ РОЛЬ

Кадников В.В., Марданов А.В., Равин Н.В.

*Институт биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, Россия, Москва, Ленинский проспект д. 33 корп. 2*

*[nravin@biengi.ac.ru](mailto:nravin@biengi.ac.ru)*

Глубинная подземная биосфера является самой большой по объему экосистемой и содержит от 12 до 20% всей биомассы микроорганизмов на Земле. Микробные сообщества могут существовать на глубинах до 3-5 км, не завися от притока органических веществ с поверхности и существовать автономно на протяжении сотен миллионов лет. Изучение этих микроорганизмов традиционными микробиологическими методами является сложной задачей, поскольку в естественных условиях они, как правило, развиваются в условиях низкой доступности субстратов и источников энергии, вследствие чего время генерации может достигать сотен-тысяч лет. Поэтому подземная биосфера остается одной из наименее изученных экологических ниш, большинство микроорганизмов которой относится к «некультивируемым» линиям. Метагеномика и секвенирование геномов единичных клеток не только позволяют описать разнообразие, метаболизм сообщества и осуществляемые им биогеохимические процессы, но и описать на геномном уровне «некультивируемые» линии микроорганизмов и их роль в экосистеме.

Мы исследовали микробные сообщества подземных вод Западно-Сибирского региона, залегающих на глубине 2-3 км. Эти экологические ниши изолированы от поверхности, характеризуются высоким давлением и температурой. Молекулярный анализ этих микробных сообществ показал, что менее половины микроорганизмов относились к известным группам, а остальные представляли «некультивируемые» линии, часть из них были ранее не известны даже по последовательностям генов 16S рРНК. Два подземных резервуара термальных вод исследованы с помощью методов метагеномики и геномики единичных клеток. В первом (1-R) наряду с сульфат-восстанавливающими бактериями найдены представители филумов Chloroflexi, Ignavibacteriae, а также некультивируемых филумов Aminicenentes, BRC1 и Riflebacteria. Собраны геномы 25 бактерий, суммарно представляющие более 90% метагенома. Впервые получены геномы и определены пути метаболизма для бактерий филумов BRC1 и Riflebacteria. Эти бактерии, *Sumerlaea chitinivorans* и *Ozomobacter sibiricus*, стали первыми описанными видами в этих филумах. Во втором резервуаре (5P) около половины микроорганизмов составляли метаногенные археи, а остальные относились к некультивируемым группам бактерий. Определены геномы 65 микроорганизмов, в том числе представителей филумов WOR-3, *Acetothermia*, OLB16, Atribacteria, Microgenomates. Построены экологические модели исследованных подземных экосистем.

Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда.

## НАСЛЕДУЕМЫЕ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СИМБИОНТЫ НАСЕКОМЫХ: РАЗНООБРАЗИЕ И ЭВОЛЮЦИЯ

Илинский Ю.Ю.<sup>1,2</sup>, Быков Р.А.<sup>1</sup>, Деменкова М.А.<sup>1,2</sup>, Юрлова Г.В.<sup>1</sup>, Деменков П.С.<sup>1</sup>,  
Брошков А.Д.<sup>2</sup>, Данилова М.В.<sup>3</sup>, Вяткин Ю.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, РФ, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева,  
10; <sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Пирогова 1;

<sup>3</sup>Балтийский федеральный университет им. Канта., г. Калининград, ул. Университетская, 2  
[paulee@bionet.nsc.ru](mailto:paulee@bionet.nsc.ru)

Матерински наследуемые симбионты беспозвоночных – это разнородная группа бактерий, которые в большинстве своем не культивируемы на искусственных питательных средах. Долгое время существование подобных симбионтов у беспозвоночных было неочевидно для исследователей. Прорыв в исследованиях произошел с развитием методов микроскопии (первая половина 20 века) и инструментов молекулярно-генетического анализа. К настоящему моменту описано несколько десятков родов матерински наследуемых симбионтов беспозвоночных. Некоторые из них ограничены узким кругом хозяев, другие распространены крайне широко. Только среди насекомых потенциальное число видов-хозяев достигает нескольких миллионов. В одних случаях симбионты являются облигатными мутуалистами. Хозяин, избавленный от таких бактерий, становится нежизнеспособным или бесплодным. В других случаях удаление микросимбионта не сказывается на биологии вида-хозяина. Однако эти симбионты могут оказаться важными при определенных условиях, например, защищать от вирусов и паразитоидов, супрессировать вредные мутации хозяина и т.д. Присутствие некоторых симбионтов приводит к так называемым репродуктивным аномалиям хозяина. Таких бактерий называют «репродуктивными паразитами». Они изменяют систему размножения хозяина, направляя ее на преимущественное размножение зараженных особей.

В докладе мы даем обзор новых фактов биологии матерински-наследуемых симбионтов и отдельно обсуждаем новые результаты, касающиеся эндосимбионтов рода *Wolbachia*.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ № 19-04-00983.

## LEGUME NODULE-ROOT-LIKE GENES AND SYMBIOTIC ORGAN IDENTITY

Magne K<sup>1,2</sup>, Liu S<sup>1,2</sup>, Couzigou J-M<sup>1</sup>, Schiessl K.<sup>3</sup>, Sahl L<sup>1,2</sup>, Boyer F<sup>1,2</sup>, Je. Georges<sup>1,2</sup>, A. Iantcheva<sup>4</sup>, K. S. Mysore<sup>5</sup>, J. Wen<sup>5</sup>, V. Zhukov<sup>6</sup>, Giles E.D. Oldroyd<sup>3</sup>, Ratet P.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Plant Sciences Paris-Saclay IPS2, CNRS, INRA, Université Paris-Sud, Université Evry, Université Paris-Saclay, Orsay, France. <sup>2</sup>Institute of Plant Sciences Paris-Saclay IPS2, Paris Diderot, Sorbonne Paris-Cité, 91405, Orsay, France. <sup>3</sup>Department of cell and Developmental Biology, John Innes Centre, Norwich, United Kingdom. <sup>4</sup>AgroBioInstitute, Sofia, Bulgaria. <sup>5</sup>Plant Biology Division, The Samuel Roberts Noble Foundation, Ardmore, USA. <sup>6</sup>ARRIAM, Laboratory of Genetics of Plant-Microbe Interactions, St Petersburg, Russia.

[pascal.ratet@cnrs.fr](mailto:pascal.ratet@cnrs.fr)

Symbiotic interactions between legume plants and soil bacteria results in the formation of a symbiotic dedicated organ, the nitrogen fixing nodule. It has been shown that nodules share developmental regulators and key features with lateral roots. In this context, we previously identified the *Medicago truncatula* NODULE ROOT (*MtNOOT1*) and *Pisum sativum* COCHLEATA (*PsCOCH1*) orthologous genes of the NOOT-BOP-COCH-LIKE (NBCL) gene family, as required for the maintenance of nodule identity. In the *Mtnoot1* and *Pscoch1* mutant plants, roots develop from apices of the nodule vascular bundles. We have now identified a second *MtNOOT* (*MtNOOT2*) that belongs to a second legume NBCL sub-clade present in *M. truncatula* and strongly induced during nodulation. Loss of *MtNOOT2* function enhances the *Mtnoot1* phenotypes with the *Mtnoot1noot2* mutant forming either root-like symbiotic organs with fix<sup>-</sup> phenotype or even simple root-like structures. Furthermore, we found that loss of *MtNOOT1* and *MtNOOT2* function causes expression changes for genes involved in symbiosis, defence, and root development, suggesting that during evolution the *MtNOOT* genes were recruited to allow a functional interaction by repressing root identity in nodules. Furthermore, we have shown that orthologs of these two genes are present in pea (*COCH1* and *COCH2*) and play similar functions in this plant. In contrast there is only one gene (*LjNBCL1*) in *Lotus japonicus* forming determinate nodules but this gene also plays a role in the identity of the symbiotic organ.

This work was supported by the CNRS, by the grant ANR-14-CE19-0003 (NOOT) from the Agence National de la Recherche to PR, by the Grant # 14-24-00135 from the Russian Science Foundation to VZ and by the Bill and Melinda Gates Foundation to GEDO.

## SINGLE GAIN AND MASSIVE LOSS OF NITROGEN-FIXING NODULATION

Geurts R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Wageningen University, The Netherlands, Wageningen  
[rene.geurts@wur.nl](mailto:rene.geurts@wur.nl)

The nitrogen-fixing nodulation trait occurs in phylogenetically separated plant lineages, of which legume (Fabaceae) – rhizobium symbiosis is best known due to its agronomic importance. Evolution of nitrogen-fixing root nodules can be explained by two alternative hypotheses: (i) a single gain of the trait followed by massively parallel loss, or (ii) parallel evolution of the trait and only a few losses. For long the latter hypothesis was widely accepted. However, recent phylogenomic data using *Parasponia* -the only non-legume lineage that can establish nitrogen-fixing root nodules with rhizobium- revealed parallel loss of key nodulation genes in related non-nodulating species. These findings strongly support the alternative hypothesis; a single gain of the nitrogen-fixing nodulation trait followed by a massively parallel loss in most descendant lineages. The consequences of these findings will be presented.

**Acknowledgements:** This work was supported by NWO VICI 865.13.001

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ, МЕТАБОЛИЗИРУЮЩИХ АБСЦИЗОВУЮ КИСЛОТУ

Гоголев Ю.В.<sup>1</sup>, Гоголева Н.Е.<sup>1</sup>, Коннова Т.А.<sup>1</sup>, Исмаилов Т.Т.<sup>1</sup>, Дмитриева С.А.<sup>1</sup>,  
Николайчик Е.А.<sup>2</sup>, Шапошников А.И.<sup>3</sup>, Юзихин О.С.<sup>3</sup>, Сафронова В.И.<sup>3</sup>, Белимов  
А.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, РФ, Казань, ул. Лобачевского, 2;

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Беларусь, Минск, пр. Независимости, 4;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСХМ РАН), Пушкин-8, Санкт-Петербург, шоссе Подбельского, д. 3.

[gogolev.yuri@gmail.com](mailto:gogolev.yuri@gmail.com)

Фитогормон абсцизовая кислота (АБК) играет важную роль в развитии и выживании растений. Значительные количества АБК попадают в почву с корневыми выделениями, опадающими листьями, спелыми плодами и другими частями растений. Накопление АБК может препятствовать прорастанию семян и отрицательно влиять на скорость роста растений. Кроме того, некоторые фитопатогенные грибы синтезируют этот фитогормон в процессе взаимодействия растениями. Вместе с тем, биохимические пути конверсии АВА микроорганизмами и генетические детерминанты этого процесса остаются неизвестными. Ранее были выделены два бактериальных штамма *Rhodococcus* sp. P1Y и *Novosphingobium* sp. P6W, использующих АБК в качестве единственного источника углерода. Оба штамма проявили способность уменьшать концентрации АБК в саженцах риса и томатов и стимулировать рост растений (Белимов и др., 2014). Одним из подходов для идентификации генов-кандидатов на роль утилизации АБК может служить сравнение геномов штаммов бактерий со сходными функциями. Нами были определены и депонированы в базу данных NCBI полные геномные последовательности штаммов *Novosphingobium* sp. P6W (CP030352.1, CP030353.1, CP030354.1, CP030355.1) и *Rhodococcus* sp. P1Y (GCF\_003641205.1), проведен сравнительный анализ геномов исследуемых штаммов, в результате которого были выявлены сходные диоксигеназы. Методом секвенирования РНК выполнен транскриптомный анализ бактерий, использующих АБК в качестве источника углерода. В результате работы определены гены-кандидаты на роль АБК-деструкторов.

Другим направлением исследований послужил биохимический анализ бактериальных метаболитов абсцизовой кислоты. Для этого были использованы препараты АБК, меченные радиоактивными и тяжелыми изотопами, позволившими провести хроматографическое разделение метаболитов и их масс-спектрометрический анализ. В докладе будет представлена полученная модель биохимического пути деградации и утилизации АБК исследуемыми почвенными бактериями.

1. Belimov A.A., Dodd I.C., Safronova V.I., Dumova V.A., Shaposhnikov A.I., Ladatko A.G., Davies W.J. Abscisic acid metabolizing rhizobacteria decrease ABA concentrations *in planta* and alter plant growth. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 74, 84-91.

2. Shevchenko V.P., Nagaev I.Yu., Shaposhnikov A.I., Shevchenko K.V., Belimov A.A., Batasheva S.N., Gogoleva N.E., Gogolev Yu.V., Myasoedov N.F. Synthesis and Testing of Abscisic Acid with Predominant Replacement of Protium Atoms by Tritium in the Cyclohexene Moiety. *Doklady Chemistry*, 2018, Vol. 483, Part 1, pp. 268–271.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №17-14-01363.

## СИМБИОЗ КАК ЭКСТРЕМАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ И ЭВОЛЮЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ

Андронов Е.Е., Проворов Н.А.

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3  
[eeandr@gmail.com](mailto:eeandr@gmail.com)

Эволюционные и экологические взаимодействия природных микробиомов с окружающей средой представляют собой широчайший спектр реакций. В данном сообщении будут представлены процессы взаимодействия почвенных микробиомов с растениями, в которых по мере приближения к растению, т.е., при переходе из почвы в ризосферу, ризоплану и эндосферу растений можно наблюдать радикальное усиление эволюционных процессов. Так, при формировании ризосферных микробиомов наблюдается образование специфичных микробных сообществ в непосредственной близости к корню растения, представляющих собой своеобразный «экологический» интерфейс, оптимизирующий взаимодействие растения с окружающей средой. Однако эти, с эволюционной точки зрения, довольно «слабые» взаимодействия представляют собой лишь вариации в численностях определенных таксонов. При продвижении в эндосферу растения, интенсивность эволюционных процессов радикально возрастает и достигает своего максимального выражения в эндосимбиозах, где растение не только становится местом обитания микроорганизмов, но и генетически «интегрируется» со своими микросимбионтами. Как нам представляется, ко-эволюционные взаимоотношения в симбиозе между растением и микроорганизмом могут быть представлены как экстремальная модель экологических отношений, как по силе взаимодействий, так и по их исключительно высокой специфичности. В данном сообщении будут приведены данные о формировании симбиотических популяций ризобий в соответствии со структурой растительных «рецептов», так, что их отношения можно описать как отношения твердой матрицы (растительный рецепт) и запрессовываемого в нее пластичного материала (популяция ризобий), таким образом, что в этом процессе согласовываются не только уровни генетического разнообразия популяций хозяина и микросимбионта, но и топология их филогений. Аналогичные отношения можно видеть и на более высоком уровне, характеризующем эволюционную динамику макро- и микросимбионта в процессах согласованного кладогенеза. Исследования эволюционного и экологического реликта вавилонии красивой, являющейся по некоторым данным ближайшим живым родственником последнего общего предка трибы *Fabeae*, позволили выявить в ее клубеньках реликтовые формы симбиотических микроорганизмов, по всей видимости, весьма близких к протосимбионту, эволюционному предшественнику современных форм *Rhizobium leguminosarum*. Полученные данные позволили нам сформулировать расширение для теории центров происхождения Н.И. Вавилова: генцентрами микроорганизмов могут являться реликтовые линии их макросимбионтов. Данные, представленные в данном сообщении, обращают внимание на исключительно высокий эвристический потенциал симбиотических систем как модельных объектов для экологических и эволюционных исследований.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ 18-16-00073

## ЦИТОСКЕЛЕТ ОТ РАСТЕНИЙ К БАКТЕРИЯМ: ЭВОЛЮЦИОННЫЙ АСПЕКТ И БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Щеголев С.Ю.

*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Россия, Саратов, 410049, просп. Энтузиастов, 13*

*shegolev\_s@ibppm.ru*

С использованием метода гомологичного молекулярного моделирования проведено сравнение эволюционных и структурных характеристик актиноподобного белка MreB бактерий *Azospirillum brasilense* Sp245 и G-актина *Arabidopsis thaliana*. Установлена таксономическая близость и гомологичность аминокислотных последовательностей MreB из микробиологических объектов, характеризующихся высоким уровнем их филогенетических отличий – от родов, до типов. Предполагается, что данный результат отражает общую тенденцию к эволюционной унификации протеомов бактерий, немалый вклад в которую может вносить горизонтальный перенос генов. Парная идентичность аминокислотных последовательностей MreB из *A. brasilense* Sp245 с последовательностями белков из представителей указанных таксонов варьирует в интервале, гораздо более широком по сравнению с аналогичным интервалом для актина из *A. thaliana*, при существенно больших филогенетических отличиях обнаруженных носителей его гомологов на уровне царств и типов. Это свидетельствует о более высокой эволюционной изменчивости MreB по сравнению с растительным G-актином, проявившейся также по результатам выравнивания их 3D структур, что можно связать с отмеченными в литературе существенными отличиями в механизмах и сценариях эволюционного развития данных белков у про- и эукариотов [1]. Однако каркас 3D структур MreB из бактерий и актинов из организмов с белками, гомологичными растительному G-актину, практически сохраняется в своей основе даже для представителей весьма отдаленно родственных доменов про- и эукариотов. Впервые для рассматриваемых белков таксономические взаимосвязи между ними были установлены также на основе выравнивания 3D структур. На примере семейства *Azospirillaceae* получены свидетельства актуальности существенной ревизии древа жизни прокариотов, связанной с условностью их исторически сложившейся классификации и номенклатуры, диктуемой результатами таксономии на основе полногеномных данных, активно развиваемой в последние годы [2]. В целом полученные результаты дают пример выявления и визуализации на уровне 2D и 3D структур глубоких эволюционных взаимосвязей между актиноподобными белками бактерий и актинами растений.

[1]. Doolittle R.F., York A.L. Bacterial actins? An evolutionary perspective. // 2002, BioEssays, V.24, P.293-296.

[2]. Parks D.H *et al.* A standardized bacterial taxonomy based on genome phylogeny substantially revises the tree of life. // 2018, Nat. Biotechnol., V.36, P.996-1004.

## FROM COMPARATIVE GENETICS TO COMPARATIVE CELL BIOLOGY OF LEGUME-RHIZOBIAL SYMBIOSIS

Tsyganov V.E.<sup>1</sup>, Kitaeva A.B.<sup>1</sup>, Kusakin P.G.<sup>1</sup>, Gorshkov A.P.<sup>1</sup>, Seliverstova E.V.<sup>1,2</sup>,  
Demchenko K.N.<sup>1,3</sup>, Brewin N.J.<sup>4</sup>, Tsyganova A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>All Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Podbelsky chaussee 3, Saint Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia,

<sup>2</sup>Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Torez prospect 44, Saint Petersburg, 194223, Russia

<sup>3</sup>Komarov Botanical Institute, Prof. Popov street 2, Saint-Petersburg, 197376, Russia.

<sup>4</sup>John Innes Centre, Norwich Research Park, Norwich NR4 7UH, UK

[tsyganov@arriam.spb.ru](mailto:tsyganov@arriam.spb.ru)

Genetic studies of the legume-rhizobial symbiosis are of great interest both for basic science and for agricultural practice. Unfortunately, legumes that are important for agricultural production are characterized by large genomes and a lack of effective protocols for genetic transformation. Therefore, since the early 1990s, model legumes have been adopted as a platform for research and development. The most widely used model legumes are *Medicago truncatula* Gaertn. and *Lotus japonicus* (L.) Regel. The genomes of these species have been sequenced and an extensive collection of mutants has been obtained. Numerous genes have been identified that control particular stages of the development of the legume-rhizobial symbiosis. In recent years, the identification of symbiotic genes in agricultural legume crops, such as *Pisum sativum* L., has been greatly enhanced by the analysis of genomic synteny and microsytenty with model legumes.

Our research has shown that the use of synteny is productive not only at the level of searching and analyzing orthologous genes, but also when analyzing cellular structures involved in symbiosis, for example the development of the infection thread and the symbiosome. Comparative cytological studies have been carried out for pea (*Pisum sativum* L.), an important agricultural crop, and *M. truncatula*, a model legume with a pattern of nodule development that is basically similar to that of pea. Patterns of the tubulin and actin cytoskeleton and nuclear movement in connection with the development of symbiotic structures, as was the organization of the plant-microbial interface.

Both general and species-specific patterns of development were identified in the organization of symbiotic and non-symbiotic cell components. The species-specific differences might be explained by the significant difference in bacteroid morphology between the two species analyzed. Thus, research in the field of comparative cell biology for model and agricultural legumes will help to identify the general mechanisms of development of the legume-rhizobial symbiosis. At the same time, it is also important to analyze genetic variation within individual species to identify the intraspecific features that influence the formation and efficiency of nitrogen-fixing nodules.

This work was financially supported by RSF 16-16-10035

## RELATIONSHIP OF INTRASPECIES VARIABILITY OF PLANTS IN ADAPTATION TO TOXIC METALS AND INTERACTION WITH SYMBIOTIC MICROORGANISMS

Belimov A.A.<sup>1</sup>, Vishnyakova M.A.<sup>2</sup>, Shaposhnikov A.I.<sup>1</sup>, Azarova T.S.<sup>1</sup>, Makarova N.M.<sup>1</sup>, Sekste E.A.<sup>1</sup>, Puhalsky J.V.<sup>1</sup>, Loskutov S.I.<sup>1</sup>, Semenova E.V.<sup>2</sup>, Kosareva I.A.<sup>2</sup>, Safronova V.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Podbelskogo sh. 3, Pushkin, 196608, Saint-Petersburg, Russian-Federation

<sup>2</sup>N.I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources, B. Morskaya Str. 42-44, 190000, Saint-Petersburg, Russian Federation

[belimov@rambler.ru](mailto:belimov@rambler.ru)

Intensive basic research aimed at the selection of metal resistant plant genotypes, the disclosure mechanisms of metal tolerance and accumulation, as well as the study of transformation of toxic elements in soil and rhizosphere, are of current interest. Symbiotic microorganisms is a key element in the transformation of nutrients and toxic elements in soil and play an important role in adaptation of plants to the environment. A comparative study of Cd tolerance, accumulation of heavy metals (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Sr and Zn), response to mycorrhizal fungus *Glomus* sp. and various phenotypic traits of 99 pea genotypes revealed that the Cd-sensitive genotypes were more efficient in exploring the protective potential of symbiosis to compensate their deficit in Cd tolerance, suggesting that metal-tolerant plant genotypes may benefit less from inoculation with symbiotic microorganisms. The growth performance of less tolerant plant genotypes may improve considerably upon microbial inoculation. Correlations between the metal-related and phenotypic traits exist and can be helpful for selection of plant-microbe systems adapted to polluted soils. In pot experiment with 11 varieties of Indian mustard, the plant growth-promoting effect of *Variovorax papadoxus* 5C-2 negatively correlated with Cd tolerance and shoot Cd concentration of the plants. These original observations points to an evolutionary process that reflects the ability of plants to adapt to adverse environmental conditions due to the interaction with microorganisms. Screening of 106 pea genotypes showed that for this species the immobilization of Al in the rhizosphere and maintenance of nutrient homeostasis are principal mechanisms of Al tolerance. In this respect, a new methodological approach for selection of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) based on their ability to increase pH and immobilize toxic Al was implemented and successfully applied for increasing Al tolerance in pea. The selected PGPR improved nutrient uptake by plants, produced and/or utilized phytohormones and possessed antifungal activity. The obtained results can be useful for successful selection and breeding programs aimed at creating plant cultivars with high productivity and quality products cultivating on contaminated and acid soils due to formation of stress-tolerant and efficient plant-microbe symbioses. The work was supported by the Russian Science Foundation (grants 14-16-00137, 16-16-00080, 19-16-00097 and 17-14-01363).

## TRANSCRIPTOMICS, METABOLOMICS AND PROTEOMICS OF SYMBIOSES OF GARDEN PEA (*PISUM SATIVUM* L.): A NEW LOOK AT PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT IN A MULTICOMPONENT PLANT-MICROBIAL SYMBIOTIC SYSTEM

Zhukov V.A.<sup>1</sup>, Afonin A.M.<sup>1</sup>, Mamontova T.<sup>2,3</sup>, Ihling C.<sup>4</sup>, Soboleva A.<sup>2,3</sup>, Akhtemova G.A.<sup>1</sup>, Shtark O.Y.<sup>1</sup>, Zhernakov A.I.<sup>1</sup>, Kulaeva O.A.<sup>1</sup>, Kliukova M.S.<sup>1</sup>, Gribchenko E.S.<sup>1</sup>, Lukasheva E.<sup>2</sup>, Sulima A.S.<sup>1</sup>, Puzanskiy R.K.<sup>2</sup>, Shishova M.F.<sup>2</sup>, Sinz A.<sup>4</sup>, Frolov A.<sup>2,3</sup>, Tikhonovich I.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>FSBSI ARRIAM, Russia, St.Petersburg, 196608, Podbelsky ch. 3; <sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, Russia, St.Petersburg, 199034, Universitetskaya emb. 7-9; <sup>3</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Germany, Halle (Saale), 06120, Weinberg 3; <sup>4</sup>Institute of Pharmacy, Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Germany, Halle(Saale), 06120, Wolfgang-Langenbeck-Straße 4.  
vzhukov@ARRIAM.ru

Garden pea (*Pisum sativum* L.) is a valuable agricultural crop in many countries of the world, including the Russian Federation, as well as a suitable object for studying the effectiveness of multicomponent symbiosis. To date, using the analysis of pea transcriptomes, a number of studies have been carried out concerning differential gene expression, mapping of genes and loci of quantitative traits, analysis of intraspecific polymorphism, etc. The use of post-genomic technologies opens the prospective to understand the opportunities and limits of using microbial fertilizers to increase the productivity of pea.

In our work, the application of combinations of different microorganisms on pea plants was studied, and the accelerated response of plants to some of them (i.e., the synergistic effect) was demonstrated by transcriptome sequencing. The use of gas chromatography - mass spectrometry (GC/MS) to determine the composition of leaf metabolites made it possible to identify the “rejuvenating” effect of arbuscular mycorrhiza on cv. Finale pea plants: mycorrhized plants remained green longer, and the metabolic composition of leaves at a late stage of development (56 days) was similar to that of control plants at an earlier date (21 days).

GC/MS was also used to analyze the composition of the proteome of plant seeds of two pea lines, K-8274 and K-3358, grown under inoculation with a complex of microorganisms (nodule bacteria and arbuscular mycorrhiza fungi) or without inoculation. As a result, it was shown that seeds of the K-8274 line had a longer growth period (and thus accumulate a greater biomass) under inoculation, as compared to the control, while the seeds of the K-3358 line didn't demonstrate such dependence on inoculation. Consequently, different pea genotypes have different responsiveness to inoculation with soil microorganisms, and for some (highly responsive) genotypes, it is advisable to use microbiological preparations in order to prolong the seed filling period.

## IDENTIFYING AND ENGINEERING GENES FOR *PARTHENOGENESIS* IN PLANTS

Vijverberg, K.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Wageningen University and Research, Droevendaalsesteeg 1, Wageningen, The Netherlands

[kitty.vijverberg@wur.nl](mailto:kitty.vijverberg@wur.nl)

*Parthenogenesis* is the spontaneous development of an egg cell into an embryo without the requirement of fertilization. It naturally occurs in a variety of plant species, usually in combination with *apomeiosis* (the omission of meiosis) and *pseudo-* or *autogamous* endosperm formation, together known as Apomixis (clonal seed production). In combination and independently *Parthenogenesis* has high potential for application in plant breeding, for the instant production of homozygous lines from haploid gametes (*doubled haploids*, *DH*-production) or (un)reduced gametes obtained after modified meiosis; for the maintenance of vigorous *F1-hybrids* through clonal seed production after combining it with the omission of meiosis; and for linking diploid and polyploid gene pools. We focus on the unraveling of the molecular basis of parthenogenesis by using a comparative transcriptomics approach and laser assisted micro-dissection of egg cell apparatus (egg cells + synergids) and central cell populations from natural sexual and apomictic dandelions and a parthenogenesis deletion mutant (*Taraxacum*). We also reviewed the current knowledge on Parthenogenesis in plants. A summary will be discussed.

**Acknowledgements:** This work was supported by the Dutch Scientific Organisation (NWO) Applied and Engineering Sciences (STW/TTW)-fellowship 13700: *PARtool*: The molecular basis of plant embryo development without fertilization (Parthenogenesis), and its use as a tool in breeding line production.

## SEARCHING OF RECEPTORS AND SIGNAL TRANSDUCTION COMPONENTS INVOLVED IN REGULATION OF PEA-RHIZOBIAL SYMBIOSIS DEVELOPMENT

Dolgikh E.A.<sup>1</sup>, Kirienko A.N.<sup>1</sup>, Leppyanen I.V.<sup>1</sup>, Bovin A.D.<sup>1</sup>, Pavlova O.A.<sup>1</sup>, Dolgikh A.V.<sup>1</sup>, Tikhonovich I.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Russian Federation, Saint-Petersburg, Podbelskogo 3, 196608

[dol2helen@yahoo.com](mailto:dol2helen@yahoo.com)

Plant LysM-receptor like kinases (LysM-RLKs) may be essential for regulation of different type of symbioses. Recently it was shown that the LysM-RLK K1 of *Pisum sativum* L. plays an important role during symbiosis establishment with rhizobia. Analysis of *k1* mutants allowed suggesting that *PsK1* is involved in initiation of the symbiosis in complex with another LysM-RLK *PsSYM10*. In addition, the *PsK1* may be important for development of infection threads in cortex and bacterial release. Testing of interaction with other known pea LysM-RLKs let to offer the scheme of receptor complexes organization at different stages of symbiosis development. Current studies are devoted to analysis of the specificity of *PsK1* in relation to Nod factor structure and the receptor complexes formation as well as the interaction of pea plants with various microorganisms. Experiments with rhizobial mutants allowed to demonstrate that *PsK1*'s function may depend on Nod factor structure and NodO bacterial protein influence at early symbiotic reactions in plant. Experiments with *PsK1* carrying replacement of P169S in LysM3 domain in its extracellular domain showed importance of this amino acid for complex formation with *PsSYM10*. Replacement of this amino-acid blocked receptors interaction in Y2H system and significantly attenuated the hypersensitive response during protein co-production in *Nicotiana benthamiana* leaves. To estimate the mechanisms of signal transduction triggering by *PsK1/PsSYM10* complex, we searched for the components of signal transduction pathway using transcriptomic and proteomic approaches. As a result, several new regulators were identified like G-protein, phospholipases, annexins, protein kinases. The signal transduction regulation during symbiosis is the matter of discussion.

This work was supported by Russian Science Foundation (grant № 16-16-10043)

## SHAPING GENOMES – THE PLANT-RHIZOBIUM PARTNERSHIP AS MODEL FOR UNDERSTANDING THE EVOLUTION OF SYMBIOSES

Mengoni A.

*Department of Biology, University of Florence, Sesto Fiorentino, Italy*

[alessio.mengoni@unifi.it](mailto:alessio.mengoni@unifi.it)

Rhizobia are soil bacteria which can form symbiotic nitrogen-fixing nodules on leguminous plants, providing an important source of fixed nitrogen input into the soil ecosystem. The exploitation of the wide range of (social) interactions rhizobia establish among themselves, with the soil and root microbiota, and with the host plant, could constitute a great advantage in the development of a new generation of highly effective rhizobia inoculants. Such optimization of existing symbioses and the possible engineering of novel synthetic symbioses will require also a comprehensive understanding of the genetics of rhizobia. The lecture will focus on multi-disciplinary approaches aimed at disclosing the still elusive biological features of rhizobia and of symbiotic nitrogen fixation. Combining evolutionary genomics, molecular genetics, synthetic biology, sociomicrobiology and predictive *in silico* modelling is paving the way toward an overall interpretative model of rhizobia-legume symbiotic interactions and then a rational selection of rhizobial strains and plant cultivars partnerships to maximize agricultural yield.

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ *WOX* И *KNOX* В РАЗВИТИИ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ КАК КОМПОНЕНТЫ КОНСЕРВАТИВНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ МОДУЛЕЙ РАСТЕНИЙ

Лебедева М.А., Азаракш М., Лутова Л.А.

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб. 7-9;

[mary\\_osipova@mail.ru](mailto:mary_osipova@mail.ru)

Эволюция растений сопровождается формированием новых регуляторных путей, контролируемых ключевые этапы вновь возникающих программ развития. Одним из примеров программы развития, возникшей в ходе эволюции растений относительно недавно, является формирование симбиотических клубеньков на корнях бобовых растений. Изучение регуляции развития клубеньков является важным для понимания эволюции процессов развития в целом, поскольку позволяет исследовать роль как компонентов, строго специфичных для регуляции клубенькообразования, так и роль эволюционно консервативных регуляторных систем, контролируемых разнообразные процессы развития у растений. Среди последних у растений описаны системы *WOX-CLAVATA (CLV)*, контролируемые активность меристем побега и корня, камбия, а также процессы эмбриогенеза. Ключевой компонент такого рода систем – ген семейства *WOX*, кодирующий транскрипционный фактор (ТФ), экспрессия которого регулируется с участием *CLV1*-подобного рецептора и лиганда - *CLE*-пептида. Мы изучили роль генов *WOX* в развитии симбиотических клубеньков, и показали, что ген *WOX5*, вовлечен в развитие симбиотических клубеньков [1]. Кроме того, исследование взаимосвязи между *WOX5* и компонентами системы авторегуляции, подавляющей образование избыточных клубеньков с участием *CLV1*-подобного рецептора и *CLE*-пептидов, показало, что экспрессия гена *WOX5* при клубенькообразовании зависит от *CLV1*-подобного гена [1].

Наряду с *WOX*, ТФ семейства *KNOX* регулируют разнообразные процессы развития у растений. В частности, в меристеме побега ТФ *KNOX* активируют экспрессию генов изопентинилтрансфераз (*IPT*), контролируемых биосинтез цитокинина. Мы показали, что в развитие клубенька также вовлечен ТФ *KNOX* — *KNOX3* [2]. Показано, что в формирующихся клубеньках ТФ *KNOX3* активирует экспрессию генов, ответственных за продукцию цитокинина, напрямую связываясь с регуляторными последовательностями генов *IPT* и *LOG*.

В целом, исследование участия ТФ *WOX* и *KNOX* в развитии симбиотических клубеньков позволило понять, что разнообразные программы развития растений контролируются с участием сходных механизмов. Полученные данные подтверждают идею о существовании эволюционно консервативных “регуляторных модулей”, в частности, таких как ТФ *KNOX* факторы и их гены-мишени, а также компоненты системы *WOX-CLV*, дивергенция которых сопровождается возникновением новых программ развития у растений.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-16-10011 и грантов РФФИ 14-04-00591-а, 15-34-20071.

[1]. Osipova et al. WUSCHEL-RELATED HOMEBOX5 gene expression and interaction of CLE peptides with components of the systemic control add two pieces to the puzzle of autoregulation of nodulation // 2012, Plant Physiology, V. 158, P. 1329-1341

[2]. Azarakhsh et al. KNOTTED1-LIKE HOMEBOX 3: a new regulator of symbiotic nodule development. // 2015, J Exp Bot., V. 66, P. 7181-95.

## FEATURES OF THE HUMAN GUT RESISTOME DEVELOPMENT

Ilina E.N.

Recently, the gut microbiota is considered as an independent human organ that implements a number of important functions of the host organism, including food digestion, neurohumoral, as well as the development and modulation of innate immunity. Being a densely populated microbial ecosystem, the gut microbiota promotes the intensive exchange of genetic information between bacteria and can serve as a reservoir of antibiotic resistance genes for potential pathogenic bacteria. Recent studies on metagenomics have made it possible to evaluate the diversity and dynamics of antibiotic resistance genes in the gut microbiota ("gut resistome"), especially among strictly anaerobic commensals. The composition of the gut resistome is different between human communities and individual patients. Many researchers point to the effect of antibiotics on the composition of the microbiota and the devastating effects of the use of antibiotics on the well-being of the host. It is obvious that drug-resistant bacteria, as well as resistance genes, can be acquired by the host from the environment, and under the antibiotic therapy, as a selection factor, a pool of resistant mutants of commensal microorganisms is formed. The results obtained in several studies have clearly shown that antibiotic treatment induces multiple changes in the gut microbial community and the composition of the resistome. In addition, disorders in the gut microbiota and resistome composition occur in a specific, reproducible and predictable manner, depending on the scheme of antimicrobial therapy. One week after short-term antibiotic treatment, intestinal resistance may return to baseline due to a certain community "resilience", but long-term antimicrobial therapy during hospitalization leads to significant long-term consequences for the intestinal resistome and microbiota. Fecal microbiota transplantation using the "healthy" microbiota of the donor, which is lack of resistance genes, is now considered as a priority way to restore the intestinal microflora.

**BENEFICIAL ENDOPHYTIC BACTERIA OF PEA (*PISUM SATIVUM L.*)**Akhtemova G. <sup>1</sup>, A. Afonin <sup>1,2</sup>, E. Vasilyeva <sup>2</sup>, V. Zhukov <sup>1</sup>, A. Borisov <sup>1</sup>, I. Tikhonovich <sup>1</sup><sup>1</sup>Federal State Budget Scientific Institution All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, chaussee Podbelsky 3, 196608, Saint-Petersburg-Pushkin,<sup>2</sup>Saint Petersburg State University, Russia

ahgulya@yandex.ru

Leguminous plants are able to form beneficial plant-microbe symbioses with microorganisms inhabiting the internal environment of the plants (endosphere): nodule bacteria, arbuscular-mycorrhizal fungi and plant-growth promoting bacteria (PGPB). Endophytic PGPB colonizing the intercellular space in various plant tissues can be isolated from all plant parts, including dry seeds. Every single type of plant is the host for one or more species of endophytic bacteria.

Aim of this work: to isolate and study culturable bacterial endophytes of pea (*Pisum sativum L.*).

Endophytic bacteria were isolated from the stems, leaves and seeds of pea (*Pisum sativum L.*) commercial cultivar "Triumph", which is characterized by high symbiotic potential, i.e. improved efficiency of symbiotic interactions with nodule bacteria and arbuscular-mycorrhizal fungi.

Plant organs were sterilized with 70% ethanol and 5% sodium hypochlorite, homogenized and plated on Petri dishes with agar nutrient medium TSA.

In total, 145 strains of endophytic bacteria were isolated. Agronomically-beneficial traits (plant growth promoting activity, production of auxin-like compounds, fungicidal and antibiotic activity) were found in 18 strains. Molecular identification of these strains was performed by sequencing of V1-V9 variable regions of 16S rDNA amplified with universal primers.

Endophytic bacteria found in peas belong to the phylum of *Proteobacteria* ( $\alpha$ -*Proteobacteria*,  $\beta$ -*Proteobacteria*,  $\gamma$ -*Proteobacteria*), *Firmicutes* and *Actinobacteria*, which are represented by families *Sphingomonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Ralstoniaceae*, *Bradyrhizobiaceae*, *Oxalobacteraceae*, *Pseudomonadaceae* and *Bacillaceae* and to 11 genera: *Bacillus sp.*, *Stenotrophomonas sp.*, *Microbacterium sp.*, *Paenibacillus sp.*, *Kocuria sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Actinobacter sp.*, *Serratia sp.*, *Rahnella sp.*, *Enterobacter sp.*

Then the growth was determined by the stimulating ability of isolated endophytic bacteria. And it was determined that the strains of bacteria *Rahnella sp.*, *Bacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Serratia sp.* and *Acinetobacter sp.*, isolated from pea tissues stimulate the growth of bacteria and inhibit the growth of pathogens.

Thus, the analysis of the tissues of pea seed (*Pisum sativum L.*) revealed the presence of beneficial endophytic bacteria that ensure the healthy growth and development of plants.

This work was supported by the grants of RSF(17-76-30016) and RFBR (19-016-00194 A), and № 0664-2019-0022.

**Симпозиум XIII: Редактирование генома / Symposium XIII: Genome Editing****MOUSE GENOME ENGINEERING USING THE CRISPR/CAS9 SYSTEM FOR DIRECT OOCYTE MICROINJECTIONS.**

Skryabin B.V, Rozhdestvensky T.S, Gubar L.V, Seeger B, Kaiser H, Stegemann A.

*Core Facility TRANsgenic Animal and Genetic Engineering Models (TRAM),*

*University of Münster, Münster, Germany.*

[skryabi@uni-muenster.de](mailto:skryabi@uni-muenster.de)

CRISPR (Clustered regularly interspaced short palindromic repeat ) system for editing genomes of various organisms was introduced in 2012 and revolutionised research in modern biology and medicine. The *CRISPR/cas9* technology has borrowed the defense system of the *Streptococcus pyogenes* and deliver the codon optimized endonuclease Cas9 to specific target site of most genomes with help of short programmable RNA molecule. The creation of specific nuclease for almost any region of DNA using CRISPR, unlike ZFN and TALEN systems, relatively easy and demonstrates high efficiency. TRAM (TRANsgenic animal and genetic engineering Models) group of the medical faculty of the University of Münster (Germany) uses the CRISPR/cas9 system in our daily work to create new lines of different kind transgenic mice. Among them the classical and conditional gene knock-out, knock-in at specific mouse loci, and introduction of point mutation or epitope in desired gene regions. The efficiency of gene modification at specific locus using the NHEJ mechanism reaches almost 90%, and the efficiency of targeted edition using the HDR mechanism is up to 50%. We will present data on the selection of the target, gRNA (crRNA) design, selection of effective nucleases, characteristics of modified loci and methods of microinjection of CRISPR/cas9 components in murine oocytes. At the end we will discuss the advantages and pitfalls of the CRISPR/cas9 system in direct mouse genome engineering.

## ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ГЕНОМА В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ НА ПРИМЕРЕ ЛОКУСА PDGFRA/KIT/KDR МЫШИ

Хабарова А.А.<sup>1</sup>, Кораблев А.Н.<sup>1</sup>, Рыжкова А.С.<sup>1</sup>, Лукьянчикова В.А.<sup>1</sup>, Баттулин Н.Р.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090, пр-т. Ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>Новосибирский государственный университет Россия, Новосибирск, 630090, ул. Пирогова, 1.  
[battulin@bionet.nsc.ru](mailto:battulin@bionet.nsc.ru)

Трехмерная организация генома эукариот оказывает серьезное влияние на регуляцию активности генов. Расшифровка молекулярных механизмов, обеспечивающих тонкую регуляцию генов в развитии и их взаимосвязь с механизмами, поддерживающими глобальную трехмерную архитектуру генома, является актуальной фундаментальной научной задачей. С помощью системы геномного редактирования CRISPR/Cas9 мы создали серию линии мышей, несущих делеции участков, определяющих формирование границ топологических доменов в локусе *Pdgfra/Kit/Kdr*. Данный локус содержит три гена - важных регуляторов развития, и имеет выраженную трехмерную организацию контактов, кроме того, имеются литературные данные, указывающие на важность 3D организации этого локуса для регуляции активности генов.

В настоящее время считается, что архитектурный белок CTCF является основным инсуляторным элементом, ограничивающим промотор-энхансерные взаимодействия смежных генов. Однако мы показали, что удаление сайтов посадки CTCF, определяющих формирование границы топологических доменов между генами *Kit* и *Kdr* не приводит к каким-либо нарушениям развития у мышей. В тоже время удаление границы и района ниже промотора гена *Kit* вызывает у мышей нарушения развития тучных клеток. Полученные данные свидетельствуют о том, что помимо CTCF важную роль в раздельной регуляции смежных генов играют: геномное расстояние, разделяющее функциональные элементы и, возможно, эпигенетический ландшафт межгенного региона.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-29-07022.

## TARGETED MITOCHONDRIAL GENOME ELIMINATION

Mazunin I.O.

*Immanuel Kant Baltic Federal University, Russia, Kaliningrad, Universitetskaya 2  
imazunin@kantiana.ru*

Last years the research in mitochondrial field is experiencing a surge. Many scientific groups have been discovering a new link between mitochondrial metabolic pathways and cell functionality. The mitochondrial genome (mtDNA), as it turn out, has more information capacity than we thought before. In addition to universally recognized genes mtDNA may encode some functional peptides, long noncoding RNAs and even microRNAs. Despite a small set of genes pathogenic mtDNA mutations lead to various neuromuscular and neurodegenerative diseases, which affect 1 in 5000 live births. Mutations correction strategies are of huge interest for potential applications in mitochondrial research and mitochondria-related human disease therapy. Mitochondrion have a membranes protecting its matrix and blocks transfer of large molecules by electroosmotic potential. To transfer into the matrix macromolecules undergo by modifications including tagging their structure by transfer machinery responded sequences. If artificial protein has particular N- or C-terminal sequence (mitochondrial target sequence, MTS) like in natural imported proteins, it will be imported into human mitochondrion. This approach was successfully used for delivery of protein-only editing systems into human mitochondrion. In particular, mitochondria-targeted restriction endonucleases (REs), zinc-finger nucleases (ZFNs), TAL effector nucleases (TALENs), have been developed to manipulate mtDNA haplotype level. All these approaches are based on specific protein-nucleic acid interactions to cut out target mtDNA. Development of sequence specific ZFNs and TALENs are laborious and technically challenging, while the use of REs is restricted by existing recognition sites in targeted DNA. RNA-guided endonucleases (RGENs) are an alternative approach that utilize a short guide RNA (gRNA) to recognize DNA through Watson-Crick interactions, bind an endonuclease, and induce site specific cleavage. Successful delivery of RNA moieties into mitochondrion is very complicated, but there is experimental proof. We have developed a design of mitochondria-targeted RGEN/SpCas9 to localize the system inside of human mitochondrion and level down mtDNA copy number as proof-of-concept for this approach. So here I am presenting and discussing ours and other groups research on mtDNA editing systems as a potential future strategy for therapeutic intervention in selected mitochondrial diseases. This work was supported by the RSF (17-75-20015).

## ALTERING PLANT DOMESTICATION TRAITS VIA SITE-DIRECTED GENOME MODIFICATION

Gerasimova S.V.<sup>1,2</sup>, Ivanova K.A.<sup>1</sup>, Hertig C.<sup>3</sup>, Korotkova A.M.<sup>1</sup>, Hiekel S.<sup>3</sup>, Kolosovskaya E.<sup>1,2</sup>, Koloshina K.A.<sup>1</sup>, Genaev M.A.<sup>1</sup>, Komyshev E.G.<sup>1</sup>, Egorova A.A.<sup>1,2</sup>, Domrachev D.V.<sup>4</sup>, Rogozina E.V.<sup>5</sup>, Kochetov A.V.<sup>1,2</sup>, Kumlehn J.<sup>3</sup>, Khlestkina E.K.<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup>Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia, Novosibirsk; <sup>2</sup>Novosibirsk State University, Russia, Novosibirsk; <sup>3</sup>Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Plant Reproductive Biology, Germany, Seeland, Gatersleben; <sup>4</sup>Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of the Siberian Branch of Russian Academy of Sciences Russia, Novosibirsk; <sup>5</sup>N.I.Vavilov Institute of Plant Genetic Resources, Russia, St.Petersburg.

[gerson@bionet.nsc.ru](mailto:gerson@bionet.nsc.ru)

The domestication syndrome is a combination of traits that distinguish domesticated species from their wild relatives. There are a limited number of key genes controlling phenotypic characteristics which have been selected in the initial period of plant domestication. It was shown that the introduction of mutations into wild-type allelic variants of domestication genes has led to the manifestation of the domestication syndrome, e.g. in wild tomato [1]. Directed modification of domestication genes is a promising strategy for the predictable introduction or improvement of desirable traits into both pre-breeding as well as elite germplasm. The hulled versus naked caryopsis character is an example of a domestication trait in barley (*Hordeum vulgare* L.). It is controlled by the single *NUD* gene encoding an AP2/ERF transcription factor [2]. The ‘Golden Promise’ cultivar features a hulled phenotype and its genome contains the wild-type allele of the *NUD* gene. We have demonstrated that homozygous frame-shift mutations induced by RNA-guided Cas endonuclease in the *NUD* gene coding sequence are associated with the formation of naked caryopses in primary mutants (T0) and their progeny. This observation demonstrates the utility of addressing domestication genes in genetic modification approaches towards a rapid and predictable alteration of crop performance-related traits. The targeted modification of domestication genes in wild relatives of crop species can be used to remove undesirable characteristics and create improved donor material for breeding programs. The domestication of edible *Solanaceae* species was associated with selection against bitterness and toxicity which is caused by accumulation of steroidal glycoalkaloids (SGA). Genome analysis of wild and domestic *Solanum* species revealed signatures of selection in genes controlling SGA biosynthesis and regulation [3]. Targeted modification of these genes is a promising strategy to decrease toxicity of wild potato and thus may also provide donor material for potato breeding. To perform a model experiment for genome modification in wild potato, we selected a set of germplasm samples from the VIR collection. The first step of work is to establish propagation, genotyping, phenotyping and *in vitro* regeneration protocols for selected wild potato accessions. This is currently being followed by targeted modification of domestication genes and proof of phenotype. This study aims to create a platform for the involvement of genebank material into breeding programs and thus to provide additional genetic diversity for trait improvement.

**Acknowledgements:** The study is supported by the RSF (16-14-00086) and the RFBR (18-316-00068).

[1]. Zsögön A. et al. De novo domestication of wild tomato using genome editing // Nat. Biotechnol. 2018. doi:10.1038/nbt.4272

[2]. Taketa S. et al. Barley grain with adhering hulls is controlled by an ERF family transcription factor gene regulating a lipid biosynthesis pathway // PNAS. 2008. V. 105, №10. P. 4062-4067

[3]. Hardigan M.A. et al. Genome diversity of tuber-bearing *Solanum* uncovers complex evolutionary history and targets of domestication in the cultivated potato // PNAS, 2017, V. 114, №46, P. E9999-E10008.

## БЕЛКИ-РЕГУЛЯТОРЫ СОМАТИЧЕСКОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ

Творогова В.Е., Поценковская Э. А., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский Государственный Университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

[v.tvorogova@spbu.ru](mailto:v.tvorogova@spbu.ru)

Соматический эмбриогенез – развитие эмбрионов из соматических клеток – широко используется для размножения и трансформации растений. Этот процесс достаточно редко можно наблюдать в природе, однако существует большое число методик, позволяющих получить соматические эмбрионы *in vitro* у различных видов растений.

Несмотря на важность соматического эмбриогенеза для биотехнологии и сельского хозяйства, механизмы, лежащие в основе регуляции этого процесса, слабо изучены. Наши исследования посвящены поиску новых белков растений, способных оказывать стимулирующее или подавляющее влияние на соматический эмбриогенез.

Нами было выявлено несколько транскрипционных факторов из семейств *WOX* и *NF-Y*, экспрессия которых ассоциирована с соматическим эмбриогенезом. Также было показано, что белок *MtWOX9-1* является стимулятором этого процесса.

Известно, что уровень экспрессии генов семейства *WOX* может регулироваться пептидными гормонами из семейства *CLE* за счет систем отрицательной или положительной обратной связи. Транскриптомный анализ каллусов со сверхэкспрессией *MtWOX9-1* позволил выявить несколько пептидов *CLE*, которые, предположительно, могут регулировать уровень экспрессии гена *MtWOX9-1*. В настоящее время мы проверяем возможность использования обнаруженных нами пептидов *CLE* для стимуляции процесса соматического эмбриогенеза.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ 16-16-10011, гранта РФФИ 17-04-01708 и гранта Ассоциации Выпускников СПбГУ.

## РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМА МИКРОВОДОРОСЛИ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ САЙТ- СПЕЦИФИЧНЫХ НУКЛЕАЗ

Сизова И.А.<sup>1</sup>, Kelterborn S.<sup>2</sup>, Hegemann P.<sup>2</sup>, Kateriya S.<sup>3</sup>, Вербенко В.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Россия, 188300, Ленинградская обл., г. Гатчина, мкр Орлова роща, д. 1; <sup>2</sup>Institute of Biology, Experimental Biophysics, Humboldt Universität, Berlin, Germany; <sup>3</sup>School of Biotechnology, Jawaharlal Nehru University, New Mehrauli Road, New Delhi, India

sizova\_ia@pnp.i.nrcki.ru , irinasiz@yahoo.com

Одноклеточная зеленая водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* (хламидомонада) - популярный модельный организм для изучения фотосинтеза, структуры и функций сенсорных фоторецепторов, фотоповедения и др. Сочетание быстрого роста и простоты культивирования характерных для микроорганизмов с фотосинтетической способностью растительных клеток, простой жизненный цикл, хорошо изученная генетика, а также безопасность для человека делают хламидомонаду ценным объектом биотехнологии. Создание для хламидомонады методов направленного редактирования ядерного генома с использованием сайт-специфичных нуклеаз открывает перспективы для использования методов синтетической биологии и метаболической инженерии и создания штаммов с новыми свойствами. Для *Chlamydomonas* мы разработали протоколы направленной инактивации генов, мутации в которых не имеют селективируемого фенотипа, с использованием цинк-пальцевых нуклеаз (ЦПН) (Sizova et al., 2013) и рибонуклеопротеинового комплекса CRISPR/Cas9 (Greiner et al., 2017). С использованием ЦПН в гены *CHR1* и *CHR2* были внесены заданные модификации, делеция и вставки ДНК различной протяженности, которые были точно скопированы с внесенной донорной ДНК по месту двухцепочечного разрыва ДНК (ДЦР). При использовании технологии CRISPR/Cas9 частота сайт-направленного мутагенеза достигает 10 – 20% от количества преселектированных клонов. К настоящему времени мы инактивировали более 25 ядерных генов, включая гены сенсорных родопсинов, N6-аденозин метилтрансферазы, деметилазы и их регулятора, а также гены, вовлеченные в репарацию ДНК. Анализ спектра мутаций показал, что предопределенные модификации наблюдаются только у 10% мутантных клеток, так как репарация ДЦР путем рекомбинации с гомологичным донором сопровождается внедрением случайных фрагментов ДНК, часто по участкам микрогомологии. Результаты CRISPR/Cas9 мутагенеза в клетках нуль-мутантов по генам ключевых белков канонического пути и альтернативного путей репарации путем соединения негомологичных концов (*KU70*, *KU80*, *POLQ*), а также гену *RAD51C* показывают, что у хламидомонады главным белком, ответственным за сайт-направленный мутагенез и репарацию Cas9-индуцированных ДЦР является ДНК полимеразы *POLQ*. Инактивация генов *KU80*, *Ku70*, *POLQ* не стимулирует репарацию ДЦР посредством гомологичной рекомбинации. Для внесения в белки выбранных аминокислотных замен, а также корректного встраивания флуоресцентных зондов предложен двустадийный протокол, основанный на ПЦР селекции целевых продуктов.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ, грант 17-54-45088.

## НОКАУТ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА *DES* С МУТАЦИЯМИ, ВЫЗЫВАЮЩИМИ КАРДИОМИОПАТИИ

Кочергин-Никитский К.С.<sup>1</sup>, Шестак А.Г.<sup>2</sup>, Заклязьминская Е.В.<sup>2,3</sup>, Болوخ С.А.<sup>4</sup>,  
Векшин Р.Д.<sup>4</sup>, Лавров А.В.<sup>1,3</sup>, Смирнихина С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр». Россия, г. Москва, Москворечье 1, 115522.

<sup>2</sup> ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского». Россия, 119991,  
г. Москва, Абрикосовский пер. 2

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет  
имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Россия, г.  
Москва, Островитянова 1, 117997.

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО «Московский педагогический государственный университет», Россия, г.  
Москва, Малая Пироговская 1, 119991.

[KochNik.KS@gmail.com](mailto:KochNik.KS@gmail.com)

Первичные наследственные кардиомиопатии (КМП) характеризуются в целом неблагоприятным прогнозом и низкой 5-летней выживаемостью у пациентов с выраженной клинической картиной. Лечение, включающее в основном неспецифические подходы, является малоэффективным, а единственным вариантом в тяжелых случаях часто оказывается трансплантация сердца. Часть наследственных кардиомиопатий связана с нарушением функций десмина - белка промежуточных филаментов цитоскелета. Нарушение функции десмина приводит к развитию редкого наследственного заболевания – десминопатии - характеризующегося нарушениями структуры, функций и регенерации мышечной ткани, развитием парезов и пр. Характерны различные кардиомиопатии, в т. ч. без вовлечения скелетной мускулатуры. Каузальные мутации демонстрируют преимущественно аутосомно-доминантное наследование. Есть данные, свидетельствующие об отсутствии клинических симптомов у людей с гетерозиготными нонсенс мутациями в гене *DES*, что указывает на потенциальную возможность снизить тяжесть кардиомиопатии, обусловленной мутациями gain-of-function в гене *DES*, путем нокаута мутантного аллеля.

Для проверки данного предположения нами был получен генетический материал от пациентов с различными формами кардиомиопатии, связанной с гетерозиготными мутациями в гене *DES* (с.330\_338del, p.A337P (с.1009G>C) и p.R355P (с.1064G>C)). Направляющие РНК против данных мутаций, совместимые с эндонуклеазами SaCas9 и eSpCas9(1.1) были подобраны используя специализированную утилиту из онлайн программного пакета Benchling (<http://benchling.com>) и клонированы в плазмиды, несущие соответствующие эндонуклеазы Cas9. Редактирующие плазмиды были ко-трансфицированы в клетки HEK293T вместе с таргетными плазмидами на основе коммерческого вектора pGEM-T (Promega), содержащими участки гена *DES* с мутациями. Анализ характерных для NHEJ инделов в выделенной из клеток спустя 48 часов после трансфекции тотальной ДНК проводился посредством TIDE-анализа полученных сиквенсов целевых участков (<https://www.deskgen.com/landing/tide.html>). Наибольшая эффективность – 4% – показана при использовании sgRNA на мутацию с.330\_338del в комбинации с eSpCas9(1.1). Эффективность других комбинаций направляющих РНК и Cas9 не превышала 3%. Необходимость специфического нокаутирования мутантных аллелей не позволяет использовать другие направляющие РНК для CRISPR/Cas9, поэтому необходимо совершенствование разработанных систем для повышения их эффективности.

## ПОИСК МИШЕНЕЙ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ РЕДАКТОРОВ ОСНОВАНИЙ

Кондратьева Е.В.<sup>1</sup>, Лавров А.В.<sup>1,2</sup>, Вареников Г. Г.<sup>3</sup>, Скоблов М.Ю.<sup>1,3</sup>, Смирнихина С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «МГНЦ», Россия, Москва, ул. Москворечье, д.1; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Россия, Москва, ул. Островитянова, 1; <sup>3</sup>Московский физико-технический институт, Россия, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9  
[ekaterina.kondratyeva@gmail.com](mailto:ekaterina.kondratyeva@gmail.com)

В течение последних четырех лет была разработана серия редакторов оснований (base editors, BE), которые представляют собой нуклеотидные дезаминазы, слитые с вариантом Cas9. Они делают возможным направленную конверсию C(G) в T(A) и A(T) в G(C) без введения двухцепочечных разрывов. Это означает, что при наследственных заболеваниях может быть исправлено четыре типа мутаций: T>C, A>G, C>T, G>A. Однако все BE имеют ряд особенностей, ограничивающих их использование.

Для поиска оптимальных мишеней для применения BE в клинической практике был проведён биоинформатический и экспертный анализ известных мутаций. Все патогенные мутации из базы ClinVar мы проанализировали на наличие PAM-последовательностей и отсутствие других мишеней в конкретном «окне» редактирования, которое имеет длину от 6 до 8 нуклеотидов для разных комбинаций дезаминазы и нуклеазы. В результате были созданы четыре базы данных мутаций, которые потенциально могут быть мишенями наиболее изученных BE: BE3, Target-AID, dCpf1-BE и ABE7.10, и обнаружено 344, 537, 148 и 1959 мишеней, соответственно. Мы выяснили, что в настоящий момент 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 оценили вручную: проанализировали ссылки на мутации в базах ClinVar, OMIM и HGMD с последующим анализом приведенных статей. В итоге были отобраны три мутации, патогенность которых доказана, и которые описаны у групп больных, а не в единичных случаях. Гомозиготная мутация с.740A>G (p.Asn247Ser) приводит к замене аминокислоты в гене *KERA* и является причиной плоской роговицы. Мутация p.Y111C в гене *KCNQ1* ассоциирована с синдромом удлиненного интервала QT и высоким риском развития синкопе. Мутация в некодирующей части (с.-26+2T>C) гена *SLC26A2* вызывает аутосомно-рецессивную дистрофическую дисплазию. Обнаруженные мутации являются хорошими кандидатами для разработки генной терапии с помощью модификации CRISPR/Cas9. Мы создали генно-инженерные конструкции для редактирования мутации в гене *KERA* и в настоящее время проводим эксперименты по анализу эффективности Target-AID. Кроме того, мы работаем над анализом остальных баз мутаций и созданием конструкций для редактирования других представляющих интерес мутаций.

Таким образом, созданы базы данных мутаций, которые потенциально можно редактировать с помощью известных редакторов оснований, куда вошли 24,3% всех патогенных мутаций у человека. Начата работа по исправлению мутации с.740A>G (p.Asn247Ser) в гене *KERA*.

## TARGETED KNOCKOUT OF THE *PAIN-1* GENE IN *SOLANUM TUBEROSUM*

Egorova A.A.<sup>1,2</sup>, Gerasimova S.V.<sup>1,2</sup>, Schedel S.<sup>3</sup>, Kumlehn J.<sup>3</sup>, Kochetov A.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Novosibirsk State University (NSU), Russia, Novosibirsk, 630090

<sup>2</sup> The Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICG SB RAS), Russia, Novosibirsk, 630090

<sup>3</sup> Plant Reproductive Biology, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben, 06466 Seeland, Germany

[egorova@bionet.nsc.ru](mailto:egorova@bionet.nsc.ru)

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is one of the most important vegetable crops in the world. To extend their postharvest shelf life, potato tubers are commonly stored in the cold. However, cold temperature stimulates the accumulation of reducing sugars in tubers. Vacuolar invertase breaks down sucrose to glucose and fructose, and makes a large contribution to the accumulation of reducing sugars. Recently it was shown that decreased levels of reducing sugars can be achieved through suppression of the *PAIN-1* vacuolar invertase gene expression by RNA interference [1] as well as via knockout of the gene by TALEN-mediated mutagenesis [2]. The Cas9/gRNA gene site-directed mutagenesis system is one of the most accurate and efficient tools of plant genome modification. Therefore, we have decided to use this system to obtain *S. tuberosum* plants with knockout of the *PAIN-1* vacuolar invertase gene. Local potato varieties "Nikulinsky" and "Golubisna" were chosen because of their high quality and amenability to genetic transformation. Sanger sequencing confirmed the sequence identity of the *PAIN-1* gene in the genomes of selected varieties to its reference sequence (GenBank: HQ110080.1). Three target sites were selected in the coding sequence of the *PAIN-1* gene. Three genetic constructs were created for selected gRNAs using a generic vector harboring a *Cas9* nuclease gene with plant-optimized codon composition under the *Petroselinum crispum* UBIQUITIN-4-2 promoter and the gRNA-encoding gene being driven by the *A. thaliana* U6-26 promoter [2]. A transient expression test based on reporter gene restoration upon mutagenesis of a test construct has been performed in order to identify gRNAs with useful activity [3]. One highly active construct was selected for further experiments. This construct is planned to be used for the transformation of potato cells and subsequent regeneration of plants carrying mutations in the *PAIN-1* gene.

**Acknowledgements:** We thank Yuri Sidorchuk from Plant Bioengineering Group (ICG SB RAS) for his help with biolistic experiment.

This work is supported by Russian Science Foundation (RSF) grant No. 16-16-04073.

1. Zhu X. et al. Vacuolar Invertase Gene Silencing in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Improves Processing Quality by Decreasing the Frequency of Sugar-End Defects. // PLoS One. 2014; 9(4): e93381.
2. Clasen B.M. et al. Improving cold storage and processing traits in potato through targeted gene knockout. // Plant Biotechnology Journal. 2016; 14: 169-176.
3. Budhagatapalli N. et al. A simple test for the cleavage activity of customized endonucleases in plants. // Plant Methods. BioMed Central, 2016; 12(1):18.

## РАЗРАБОТКА МЕХАНИЗМА ИНГИБИРОВАНИЯ НЕГОМОЛОГИЧНОГО СОЕДИНЕНИЯ КОНЦОВ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК ПРИ РЕДАКТИРОВАНИИ ГЕНОМА С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ CRISPR-CAS9

Анучина А.А.<sup>1</sup>, Мозговой И.В.<sup>2</sup>, Первая Д.В.<sup>3</sup>, Зайнитдинова М.И.<sup>1</sup>, Иванова А.В.<sup>4</sup>,  
Лавров А.В.<sup>1,2</sup>, Смирнихина С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва, Россия, ул. Москворечье, 1;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия, ул. Островитянова, 1; <sup>3</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, ул. Ленинские горы, 1; <sup>4</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия, ул. Б. Пироговская, 2;

[arinate@mail.ru](mailto:arinate@mail.ru)

При использовании геномного редактирования с помощью системы CRISPR-Cas9 для коррекции мутаций в последовательности генов важным шагом является репарация двунитевого разрыва (ДНР), вносимого нуклеазой Cas9. Единственным известным механизмом, способным обеспечить безошибочную коррекцию разрыва является гомологичная репарация (ГР). Однако данный механизм является минорным по отношению к 53BP1-зависимому негомологичному соединению концов (НГСК), производящему репарацию ДНК с внесением инсерций или делеций. Данная работа посвящена поиску факторов ингибирования 53BP1-опосредованного механизма репарации ДНР, что обеспечит доступ к участку ДНР для факторов ГР.

Анализ литературных данных выявил три ключевых фактора, участвующих в переключении между типами репарации – белки TIRR (Tudor-interacting Repair Regulator), MAD2L2 (Mitotic Arrest Deficient 2 Like 2), SCAI (Suppressor Of Cancer Cell Invasion). Согласно литературным источникам, белок TIRR является природным ингибитором фактора 53BP1 и блокирует его присоединение к местам двунитевого разрыва. MAD2L2 участвует в поддержании стабильности комплекса НГСК в месте разрыва, и снижение его экспрессии приводит к активации первого этапа гомологичной репарации. Белок SCAI стимулирует диссоциацию большей части НГСК-комплекса от белка 53BP1, и активация его экспрессии приводит к восстановлению ГР в клетке.

В работе используется ряд методик ингибирования активности НГСК: нокдаун гена *MAD2L2* с помощью siRNA, эктопическая экспрессия гена *NUDT16L1*, кодирующего белок TIRR, а также создание химерного белка spCas9-SCAI для обеспечения локальной диссоциации НГСК-комплекса от места ДНР. Разработка протокола нокдауна включала в себя тестирование эффективности трех различных siRNA к гену *MAD2L2* на клетках культуры НЕК293Т; в результате наибольшие показатели снижения экспрессии (в 30 раз по сравнению с необработанным контролем) были получены для двух из трех выбранных молекул. Для измерения экспрессии *MAD2L2* и *NUDT16L1* был разработан протокол ПЦР в реальном времени с нормировкой на гены домашнего хозяйства (*ACTB*, *B2M*, *HPRT*). Создана экспрессионная TIRR плаزمид, а также выделен фрагмент кодирующей последовательности SCAI для последующего клонирования в вектор CBA-spCas9.

Таким образом, выбраны молекулярные мишени, ингибирование и/или активация которых может потенциально усилить ГР в месте ДНР после действия Cas9, подобраны оптимальные условия для нокдауна *MAD2L2*, сконструирована экспрессионная TIRR плазмид и начаты эксперименты по повышению ГР *in vitro*.

## ANALYSIS OF BARLEY MUTANT POPULATIONS OBTAINED BY SIMULTANEOUS MUTAGENESIS AT FOUR GENOMIC LOCI

Kolosovskaya E.V.<sup>1,2</sup>, Gerasimova S.V.<sup>1,2</sup>, Hertig C.<sup>3</sup>, Korotkova A.M.<sup>1</sup>, Kukoeva T.V.<sup>1</sup>,  
Hiekel S.<sup>3</sup>, Kochetov A.V.<sup>1,2</sup>, Kumlehn J.<sup>3</sup>, Khlestkina E.K.<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Russia, Novosibirsk, Lavrentieva, 10;*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Russia, Novosibirsk, Pirogova, 1;*

<sup>3</sup>*Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Plant Reproductive Biology, Germany, Seeland, Gatersleben, Corrensstrasse 3*

<sup>4</sup>*N.I.Vavilov Institute of Plant Genetic Resources, Russia, St. Petersburg, Bolshaya Morskaya, 42, 44;*

*e.kolosovskaia@g.nsu.ru*

The reverse genetic approach allows one to identify the functions of unknown genes or to prove predicted gene function. Site-directed mutagenesis provides broad opportunities for reverse genetics. The present study aims to modify four genomic loci of barley by RNA-guided Cas9 endonuclease and to investigate the effect of different mutation types and combinations on phenotype. For this, guide RNAs were designed in such a way that they direct Cas9 nuclease to the four chosen sites in the barley genome. Target sites are located in the coding regions of four ethylene response transcription factor genes (HORVU7Hr1G089930, HORVU6Hr1G038120, HORVU6Hr1G085850, HORVU7Hr1G029870). HORVU7Hr1G089930 is the *NUD* gene, controlling hulled vs. naked caryopsis type [1]. The gene located in the HORVU6Hr1G038120 locus is the *HvWIN1* gene, a transcription factor associated with biotic stress resistance. The other two genes have never been studied, while their functions are not known. Binary vectors harboring expression units for Cas9 and gRNAs specifically customized for the four loci and a hygromycin-selection have been created. The population of primary mutants has been generated via *Agrobacterium*-mediated transformation of barley (cv. Golden Promise) immature embryos. The analysis of the primary mutants (T0 generation) revealed that 42 out of 49 plants were transgenic (harboring Cas9 and gRNA genes). Different combinations of mutations have been identified in the genomes of individual transgenic plants. Progeny of eight independent transgenic plants was produced and in total, 43 T1 plants had been analyzed. A variety of phenotypic deviations from the Golden Promise wild-type has been identified: naked caryopses, late heading, partial albinism and deficiency in cuticular wax accumulation. In order to investigate the influence of different mutations on morphological characteristics of spikes and grains, the digital phenotyping methods SpikeDroidDB [3] and SeedCounter [4] were used. Individual plants harboring different mutations have been selected for further propagation and segregation analysis. Further work comprises genotyping and phenotyping of T2 families and selection of non-transgenic plant lines still carrying various individual or combined homozygous mutations.

**Acknowledgements:** The study is supported by the RSF (16-14-00086).

[1]. Taketa S., Barley grain with adhering hulls is controlled by an ERF family transcription factor gene regulating a lipid biosynthesis pathway. // 2008, PNAS 105(10), 4062-4067.

[2]. Genaev M.A., Komyshev E.G., Fu Hao, Koval V.S., Goncharov N.P., Afonnikov D.A., SpikeDroidDB: an information system for annotation of morphometric characteristics of wheat spike. // 2018, Vavilov Journal of Genetics and Breeding 22(1), 132-140.

[3]. Komyshev, E., Genaev, M., & Afonnikov, D. Evaluation of the SeedCounter, a mobile application for grain phenotyping. // 2017, Frontiers in Plant Science 7, 1990.

## KNOCKOUT OF NICOTINE BIOSYNTHESIS GENES IN *NICOTIANA TABACUM* USING RNA-GUIDED CAS ENDONUCLEASE

Spaselnikova A.V.<sup>1,2</sup>, Egorova A.A.<sup>1,2</sup>, Tomilin M.A.<sup>1,2</sup>, Schedel S.<sup>3</sup>, Kumlehn J.<sup>3</sup>,  
Kochetov A.V.<sup>1,2</sup>, Gerasimova S.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Novosibirsk State University (NSU), Russia, Novosibirsk, 630090*

<sup>2</sup> *The Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICG SB RAS), Russia, Novosibirsk, 630090*

<sup>3</sup> *Plant Reproductive Biology, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben, 06466 Seeland, Germany*

[spaselnikova@gmail.com](mailto:spaselnikova@gmail.com)

*Nicotiana tabacum* L. is the most popular plant system for the production of recombinant proteins. The major disadvantage of tobacco as an expression system is that alkaloids accumulate in the leaves. The highly neurotoxic nicotine is the mostly present alkaloid in tobacco. Knockout of nicotine synthesis genes is a promising strategy for reducing tobacco toxicity. Nicotine is comprised of pyrrolidine and pyridine rings. Each ring is produced by independent pathways of primary metabolism. Nicotine synthesis takes place exclusively in roots, which is followed by the transport of alkaloids through the xylem to the leaves. While putrescine-N-methyltransferase (PMT) is the key enzyme for the synthesis of the pyrrolidine ring, quinolinate phosphoribosyltransferase (QPT2) is responsible for the synthesis of the pyridine ring. In addition, BBL (berberine bridge enzyme) is considered to be involved in coupling of the two rings [1]. The goal of the present study is to inactivate each stage of nicotine synthesis separately by knocking out the *PMT*, *QPT2* and *BBL* genes using the RNA-guided endonuclease Cas9. Three functional copies and three supposedly damaged copies of the *PMT* genes, four functional copies of the *QPT2* genes, five functional copies and one damaged copy of the *BBL* genes were identified in the NCBI database. The target sites were selected in conserved regions of the target gene families. Two sites were selected for the *PMT* family genes in the second exon, two for the *QPT* family genes in the second and the fifth exon, and two for *BBL* in the first exon. For these sites, guide RNAs (gRNAs) were designed in such a way as to simultaneously direct Cas9 nuclease to all genes of the family, but at the same time not to modify any other (off-target) genes. A generic vector harboring an expression cassette containing the Cas9 nuclease gene under control of the *Petroselinum crispum* UBIQUITIN-4-2 promoter and the gRNA gene under control of the *Arabidopsis thaliana* U6-26 promoter was selected for tobacco genome modification. On the basis of this vector, genetic constructs containing the various gRNAs were created. These constructs were introduced into tobacco cells (*N. tabacum*, cv. SR1) via ballistic DNA transfer together with a construct harboring the *GUS* reporter gene and the kanamycin selection gene *NPT II*. Primary regenerant plants (T0) will be characterized regarding the presence of mutations in the target motifs as well as for alkaloid content in their leaves.

**Acknowledgments:** We thank Yuri Sidorchuk from Plant Bioengineering Group (ICG SB RAS) for his help with biolistic experiment.

This work is supported by the grant of the Russian Foundation for Basic Research 18-416-543004.

[1]. Kajikawa M. et al. Genomic Insights into the Evolution of the Nicotine Biosynthesis Pathway in Tobacco // *Plant Physiol.* 2017. V. 174, No 2. P. 999–1011. DOI: 10.18699/VJ18.328

## РЕДАКТИРОВАНИЕ МУТАЦИИ P.F508DEL В ГЕНЕ *CFTR* В ИПСК

Адилгереева Э.П.<sup>1</sup>, Анучина А.А.<sup>1</sup>, Кондратьева Е.В.<sup>1</sup>, Устинов К.Д.<sup>1</sup>, Ясиновский М.И.<sup>1</sup>, Кочергин-Никитский К.С.<sup>1</sup>, Зайнитдинова М.И.<sup>1</sup>, Мозговой И.В.<sup>2</sup>, Лавров А.В.<sup>1,2</sup>, Смирнихина С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «МГНЦ», Россия, Москва, Москворечье 1; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Россия, г. Москва, ул. Островитянова 1  
[Elmira5376@gmail.com](mailto:Elmira5376@gmail.com)

Муковисцидоз (МВ) является частым наследственным заболеванием (1:2500), терапия которого остается актуальной проблемой. Самой распространенной мутацией при данном заболевании является F508del, встречающаяся у 85% больных МВ. Способность генерировать плюрипотентные стволовые клетки из доступных тканей, таких как кожа, предоставила широкие возможности для моделирования различных заболеваний, изучения патогенетических механизмов, тестирования новых терапевтических подходов и разработки клеточной терапии. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) вместе с недавними открытиями в технологиях редактирования генома обеспечивают беспрецедентную способность к моделированию, коррекции и терапии для конкретного пациента. Цель работы: коррекция мутации F508del в ИПСК, полученных от пациента с МВ, с помощью CRISPR/Cas9.

Культура ИПСК получена от пациента с МВ с гомозиготной мутацией F508del из фибробластов кожи с помощью CytoTune™-iPS 2.0 Sendai Reprogramming Kit. В работе были использованы различные нуклеазы Cas9 (eSpCas9(1.1), SpCas9(HF4) и SaCas9) в комбинации с разными направляющими РНК (две из них были подобраны непосредственно на мутацию F508del – sgCFTR#1 для SpCas9 и saCFTR#3 для SaCas9, две другие – в 5'-области от мутации). Также нами были подобраны и синтезированы четыре одноцепочечных олигонуклеотидов (ssODN) в зависимости от места, ожидаемого двуникового разрыва ДНК после нуклеазной активности. Разные комбинации Cas9, sgRNA и ssODN были трансфицированы в ИПСК с помощью липофекции (TransIT®-LT1 Transfection Reagent). Оценка эффективности редактирования была проведена через 48 часов после трансфекции с помощью методов TIDE и TIDER.

Наиболее эффективной комбинацией оказалась SaCas9+saCFTR#3: частота инделов в среднем составила 7,2% (0,6%-22,5%), при добавлении sa\_ssODN частота гомологичной рекомбинации составила 19% (17%-21,7%). Эффективность остальных вариантов редактирования была существенно ниже: частота инделов от 1,2% до 3,2%, частота гомологичной рекомбинации – от 0% до 0,5%.

В результате проведенных экспериментов нам удалось точно и эффективно отредактировать мутацию F508del в геноме ИПСК. В конечном итоге данный подход может быть использован в качестве метода клеточной терапии для пациентов, страдающих МВ.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФ (Соглашение № 17-75-20095), Программы научных исследований президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий» и государственного задания ФГБНУ «МГНЦ».

## ГЕН *F3'5'H-1* ЯЧМЕНЯ КАК МИШЕНЬ ДЛЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ

Вихорев А.В.<sup>1,2</sup>, Стрыгина К.В.<sup>1</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup> Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 2; <sup>3</sup> ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44  
[vihorev97@mail.ru](mailto:vihorev97@mail.ru)

Растительные пигменты антоцианы являются группой природных биологически активных соединений. У ячменя *Hordeum vulgare* L. антоцианы могут специфически синтезироваться и накапливаться во многих тканях, например, в алейроновом слое и перикарпе, придавая зерновке растения голубой и красно-фиолетовый цвет, соответственно [1]. Однако на данный момент на территории России не созданы и не возделываются сорта ячменя, обладающие антоциановой окраской зерновки. Ввиду потенциала, который имеет насыщенное антоцианами зерно, изучение генов, вовлечённых в синтез антоцианов, является актуальной задачей.

Известно, что синтез голубых антоциановых пигментов обуславливается наличием в геноме функциональных аллелей гена флавоноид 3', 5'-гидроксилазы (*F3'5'H*). Но в отсутствие экспрессии гена *F3'5'H* будет происходить накопление не голубых, а красно-фиолетовых пигментов за счёт активности высоко гомологичного гена флавоноид 3'-гидроксилазы (*F3'H*). Однако гены *F3'H* и *F3'5'H* относятся к наименее изученным семействам структурных генов биосинтеза антоцианов ячменя. В настоящей работе нами были идентифицированы две копии гена *F3'H* (хромосомы 1HL и 6HS) и четыре копии гена *F3'5'H* (хромосомы 4HL, 6HL, 6HS и 7HS) в геноме ячменя. Анализ аминокислотных последовательностей продемонстрировал наличие консервативных мотивов, характерных для генов флавоноид-гидроксилаз, у всех копий *F3'H* и *F3'5'H*, за исключением *F3'5'H-3*, который оказался нефункциональной копией гена *F3'5'H-2*. Анализ количественной экспрессии генов выявил тканеспецифическую активность для генов, обозначенных *F3'H-1*, *F3'H-2*, *F3'5'H-1* и *F3'5'H-2*. Было обнаружено, что экспрессия гена *F3'H-1* соотносится с пигментацией перикарпа ячменя, в то время как окраска алейронового слоя связана с активностью гена *F3'5'H-1*.

На основе полученных данных планируется создать генетическую конструкцию для нокаута гена *F3'5'H-1* с целью получения новых линий ячменя с изменённым составом антоциановых пигментов.

[1]. Шоева О.Ю., Стрыгина К.А., Хлесткина Е.К., Гены, контролирующие синтез флавоноидных и меланиновых пигментов ячменя // 2018, Вавиловский журнал генетики и селекции. Т.22(№3), С.333-342.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-416-543007.

**Симпозиум XIV: Дифференцировка и стволовые клетки / Symposium XIV:  
Stem Cells and Differentiation****ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ  
ИССЛЕДОВАНИЙ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**Томилин А.Н.<sup>1,2</sup><sup>1</sup> *Институт трансляционной биомедицины СПбГУ, Россия, Санкт-Петербург,  
Адрес Университетская наб. д.7-9., пом. 1050, 199034;*<sup>2</sup> *ФГБУН «Институт цитологии РАН», Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4, 194064  
[a.tomilin@incras.ru](mailto:a.tomilin@incras.ru)*

Плюрипотентные стволовые клетки, которым будет посвящен доклад, выдвинулись на передний край клеточной биологии и, возможно, всей биомедицины в связи с широчайшими возможностями применения этих клеток для моделирования заболеваний и тканезаместительной терапии у человека. Уникальной особенностью этих клеток является способность к самоподдержанию и дифференцировки во все клеточные типы тканей взрослого организма (за исключением двух внезародышевых клеточных типов – трофэктодермы и первичной энтодермы). В докладе будет освещена история развития данного направления клеточной биологии, приведены результаты современных достижений в области плюрипотентных стволовых клеток. Также будут приведены результаты недавних исследований лаборатории, касающиеся как фундаментальных аспектов изучения этих клеток, так и возможности их практического применения.

**Благодарности:** Проекты, представленные в докладе, были поддержаны грантами РФФ 17-14-01407, РФФИ 18-04-01199, и программой Президиума РАН ФИМТ.

## РЕГЕНЕРАЦИЯ КОЖИ: МОРФОГЕНЕЗ, СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ВОЗМОЖНОСТИ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Воротеляк Е.А.<sup>1,2,3</sup>, Бейлин А.К.<sup>1,2</sup>, Гурская Н.Г.<sup>1,2</sup>, Калабушева Е.П.<sup>1,2</sup>, Рябинин А.А.<sup>1,3</sup>, Чермных Э.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, 119334, ул. Вавилова, 26,

<sup>2</sup>Российский национальный исследовательский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, 117997, ул. Островитянова, 1, <sup>3</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, 1

[vorotelyak@yandex.ru](mailto:vorotelyak@yandex.ru)

Естественная регенеративная способность эпителиев поддерживается функционированием особой популяции стволовых клеток. Успешная регенерация ткани, в том числе методами тканевой инженерии, зависит от сохранения этой популяции, ее морфогенетического и пролиферативного потенциала. Создание тканевых эквивалентов эпителиев и эпителио-мезенхимных конструкций основано на самоорганизации клеток и их взаимодействии с матриксом. При этом существенным является предотвращение перехода компартамента стволовых клеток в транзиторное состояние и поддержание свойств клеток, обеспечивающих морфогенез. Эти процессы изучаются нами в моделях эквивалентов кожи. Перспективной целью является реконструкция не только эпителиально-мезенхимальной двухкомпонентной структуры кожи, но и регенерация придатков кожи. Основываясь на изучении специфических свойств клеток, полученных из волосяных фолликулов, и их морфогенетических способностей, мы добились успеха в реконструкции органоидов зародышей волоса из постнатальных клеток кожи и волосяных фолликулов человека. Генетическая модификация клеток таких эквивалентов позволяет получать модельные системы заболеваний кожи, усиливать способности клеток к морфогенезу и восстанавливать способность к нормальной дифференцировке и стратификации, нарушенную при врожденных заболеваниях кожи. Дифференцировка плюрипотентных стволовых клеток в клетки кожи (эпидермальные и мезенхимные) дает возможность изучать регуляцию процессов дифференцировки и воспроизводить ранние этапы морфогенеза кожи и ее придатков.

Выполнено в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН.

## НОВЫЙ МАРКЕРНЫЙ ПРИЗНАК НИЗКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК ЭУКАРИОТ И ОБЛАСТИ ЕГО ПРИМЕНЕНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Богачев С.С.<sup>1</sup>, Проскурина А.С.<sup>1</sup>, Поттер Е.А.<sup>1</sup>, Долгова Е.В.<sup>1</sup>, Риттер Г.С.<sup>1,2</sup>, Андрушкевич О.М.<sup>1,2</sup>, Ефремов Я.Р.<sup>1,2</sup>, Байбородин С.И.<sup>1,2</sup>, Николин В.П.<sup>1</sup>, Попова Н.А.<sup>1,2</sup>, Леплина О.Ю.<sup>3</sup>, Останин А.А.<sup>3</sup>, Черных Е.Р.<sup>3</sup>, Мишинов С.В.<sup>4</sup>, Ступак В.В.<sup>4</sup>, Таранов О.С.<sup>5</sup>, Сидоров С.В.<sup>6</sup>, Колчанов Н.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск, пр.акад.Лаврентьева 10; <sup>2</sup> ФГАОУВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Россия, Новосибирск, ул. Пирогова 1; <sup>3</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Россия, Новосибирск, ул. Ядринцевская 14; <sup>4</sup> ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л.Цивьяна» Минздрава России, Россия, Новосибирск, ул. Фрунзе 17; <sup>5</sup> ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Россия, Новосибирская область, р. п. Кольцово; <sup>6</sup> ГБУЗ Новосибирской области «Городская клиническая больница № 1», Россия, Новосибирск, ул. Залесского 6  
[labmolbiol@mail.ru](mailto:labmolbiol@mail.ru)

Открыт и охарактеризован новый маркер низкодифференцированных клеток различного генеза, включая нормальные стволовые клетки и стволовые раковые клетки, – способность естественным механизмом интернализировать фрагменты экстраклеточных двуцепочечных нуклеиновых кислот [1]. Установлено, что интернализированные в стволовые клетки различного генеза экстраклеточные двуцепочечные фрагменты интерферируют процесс репарации двуцепочечных разрывов. Мода интерференции такова, что в зависимости от типа и фазы репаративного процесса, стволовая клетка, как нормальная, так и раковая, или выживает, или необратимо погибает (для раковой стволовой клетки возможен вариант разрушения опухолевого статуса). Указанный принцип был использован в двух направлениях экспериментальной работы. Разработана стратегия эрадикации стволовых раковых клеток (Каранахан – «убивающий причину») и вылечения асцитной и солидной форм экспериментальной опухоли мышей Krebs-2 [2,3]. Создано новое высокоэффективное радиопротекторное вещество, обладающее пролонгированным радиопротекторным действием.

[1]. Dolgova E.V., Alyamkina E.A., Efremov Y.R., *et al.* Identification of cancer stem cells and a strategy for their elimination. // 2014, Cancer Biol Ther., V. 15, N 10, P. 1378-1394.

[2]. Potter E.A., Dolgova E.V., Proskurina A.S., *et al.* A strategy to eradicate well-developed Krebs-2 ascites in mice. // 2016, Oncotarget, V. 7, N 10, P. 11580-11594.

[3]. Potter E.A., Proskurina A.S., Ritter G.S., *et al.* Efficacy of a new cancer treatment strategy based on eradication of tumor-initiating stem cells in a mouse model of Krebs-2 solid adenocarcinoma. // 2018, Oncotarget, V. 9, N 47, P. 28486-28499.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при многолетней финансовой поддержке Петрова Д.Б., Зайцевой И.Н., Шурдова М.А.

## ПОСЛЕДСТВИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ В ХОДЕ ХИМИОТЕРАПИИ

Демидов О.Н.<sup>1,2</sup>, Кочеткова Е.Ю.<sup>1</sup>, Григораш Б.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт Цитологии РАН, Россия, Санкт-Петербург, 194064;

<sup>2</sup>INSERM UMR 1231, Университет Бургундии, Франция, Дижон, 21000

[demidov.on@outlook.com](mailto:demidov.on@outlook.com)

Онкологические заболевания являются наиболее распространённой патологией в развитых странах. Несмотря на большие успехи в создании новых методов лечения опухолей, включая таргетную терапию и иммунотерапию, химиотерапевтические препараты остаются основным методом лечения онкологических заболеваний.

В последнее время в связи с усовершенствованием методов геномного секвенирования был выявлен феномен клонального гемопоэза – клонального увеличения гемопоэтических клеток, несущих приобретенные с возрастом соматические мутации, дающие данным клеткам эволюционные преимущества. Был определен список наиболее часто встречаемых мутаций, способных вызывать клональную экспансию гемопоэтических клеток. Интересно отметить, что спектр мутаций вызывающих клональный гемопоэз у людей, имевших в анамнезе проведенный курс химиотерапии отличался от спектра мутаций у лиц, не принимавших химиопрепараты [1]. Наиболее часто встречаемые мутации при клональном гемопоэзе в старении обнаруживались в гене деметилазы DNMT3A, в то время как при клональном гемопоэзе после химиотерапии наиболее часто выявлялись мутации в последних двух экзонах гена серин-треониновой фосфатазы PPM1D [1, 2].

В настоящей работе будет приведен обзор возможных последствий мутаций, ассоциированных с клональным гемопоэзом и приведены последние данные, полученные в нашей лабораторией, о роли гена PPM1D в гемопоэтических клетках и функциональном значении мутаций, связанных клональным гемопоэзом, при химиотерапии.

[1]. Steensma DP et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2015 Jul 2;126(1):9-16.

[2] Hsu JJ et al. PPM1D Mutations Drive Clonal Hematopoiesis in Response to Cytotoxic Chemotherapy. *Cell Stem Cell*. 2018 Nov 1;23(5):700-713.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-04-01592

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ЭФФЕКТОВ ДЕЛЕЦИИ И ДУПЛИКАЦИИ ГЕНА *CNTN6* НА НЕЙРОГЕНЕЗ *IN VITRO*

Шнайдер Т.А.<sup>1</sup>, Гридина М.М.<sup>1</sup>, Ульянов С. В.<sup>2</sup>, Фишман В.С.<sup>1</sup>, Белокопытова П.<sup>1</sup>,  
Лебедев И.Н.<sup>3</sup>, Серов О.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, Новосибирск, пр.ак.Лаврентьева,10; <sup>2</sup> Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, ул.Вавилова, 34/5; <sup>3</sup> НИИ медицинской генетики, Томского Национального Центра, Томск, ул.Набережная реки Ушайки, 10

[serov@bionet.nsc.ru](mailto:serov@bionet.nsc.ru)

Хромосомные перестройки в коротком плече 3-й хромосомы человека вызывают нарушения умственного развития. Ранее было показано, что два гетерозиготных пациента со сходной клинической симптоматикой и дисморфозами, содержат либо делецию (400 т.п.о.) или дупликацию (около 1000 т.п.о.) затрагивающие единственный ген – *CNTN6* (кодирует контактин-6). Используя «коктейль Яманаки», были получены и охарактеризованы культуры индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) из фибробластов обоих пациентов и здоровых доноров. Для «усиления» эффектов мутации гена *CNTN6*, были индуцированы с помощью CRISPR/cas9 технологии миссенс-мутации в нормальном аллеле ИПСК гетерозиготных по делеции. Два протокола дифференцировки ИПСК, в монослойной культуре и 3D-церебральных органоидах, были использованы для получения нейральных клеток. Анализ экспрессии *CNTN6* показал снижение уровня его экспрессии в нейронах как с одной, так и с 3-х копиями относительно нормального генотипа. Установлено, что экспрессия обеих копий дуплицированного гена *CNTN6* в нейронах существенно ниже, чем нормального аллеля. Проведенный анализ 3D-организации генома и распределение эпигенетических меток в ИПСК с дупликацией выявил признаки супергетерохроматизации участка, включающему обе копии дуплицированного гена *CNTN6*. Анализ формирования *in vitro* 3D-церебральных органоидов (ЦО) из ИПСК показал, что они проходят стадии дифференцировки, включающие нейроэпителиальные клетки и появление клеток радиальной глии (РГ), затем появление клеток базальной РГ и «промежуточных» клеток-предшественников и нейроны кортикальной пластинки. Иммунофлуоресцентный анализ маркеров, характеризующие разные стадии нейрогенеза, не выявил достоверных морфологических различий между ЦО генотипов +/+ и del/+. Однако, дифференцировка ИПСК с мутацией обоих аллелей гена *CNTN6* останавливалась на ранней стадии фолдинга (выпячивания) нейроэпителиальных клеток. РТ-ПЦР выявил присутствие транскриптов гена *CNTN6* на 15-й день культивирования ИПСК. Более того, иммунофлуоресцентный анализ с использованием антител против контактина-6 обнаружил его присутствие в ранних клетках-предшественниках. Важно отметить, что слой клеток состоящий из «промежуточных» клеток-предшественников представлен преимущественно клетками негативными по контактину-6, тогда как кортикальный слой нейронов отчетливо позитивны по этому маркеру. Таким образом, экспрессия гена *CNTN6* имеет место в ранних нейральных клетках-предшественниках задолго до появления зрелых нейронов.

## СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА У РАСТЕНИЙ

Лутова Л.А., Додуева И.Е., Ткаченко А.А., Маловичко Ю.А., Правдина О.А.

Опухольобразование у растений – сравнительно редкое явление, связанное с нарушением системного контроля деления клеток - следовательно, опухоли могут быть использованы в качестве модели для изучения генов, участвующих в системном контроле. В большинстве случаев опухоли у растений развиваются под влиянием определенных патогенов (патоген-индуцированные опухоли), реже – под влиянием генотипа самого растения: у межвидовых гибридов, инбредных линий, мутантов (спонтанные опухоли). В нашей работе мы сосредоточились на поиске механизмов развития опухолей разного происхождения, особое внимание уделялось выявлению генов, задействованных в контроле опухолевого роста, среди ранее выявленных регуляторов развития меристем. Основная наша идея заключалась в том, что возникновение аномальных эктопических меристем, к которым относятся опухоли, находится под контролем консервативных механизмов *WOX-CLAVATA*, обеспечивающих баланс пролиферации и дифференцировки клеток в норме. Объектами исследований служили два типа опухолей у растений – спонтанные (опухоли у инбредных линий генетической коллекции редиса) и патоген-индуцированные (вызванные *Agrobacterium tumefaciens*). Анализ гистологической структуры и выявление зон пролиферации клеток у разных по происхождению опухолей показал их большое сходство. В опухолях обоих типов была продемонстрирована активация экспрессии ряда меристем-специфичных генов, в частности – генов семейств *WOX* и *CLE*; причем максимумы их экспрессии были приурочены к зонам активной пролиферации клеток. Анализ транскриптомов корончатого галла и спонтанных опухолей редиса также выявил активацию экспрессии ряда генов в обоих типах опухолей, в том числе – генов, регулирующих ответ на цитокинин и ауксин, а также генов *CLE*, продуктами которых являются пептидные фитогормоны. Наконец, были получены данные, позволяющие предположить участие системы авторегуляции клубенькообразования (AON), задействованной в контроле развития симбиотических клубеньков, в формировании корончатого галла под влиянием агробактерий. Таким образом, показано, что высоко консервативные меристемные регуляторы – системы *WOX-CLAVATA* - участвуют также в развитии опухолей у растений. Исследования поддержаны грантами РФФ 16-16-10011 и РФФИ 18-04-01017.

## УРОВЕНЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ ПРИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ В МОТОНЕЙРОНЫ ИНДУЦИРОВАННЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ С РАЗНОЙ ТЯЖЕСТЬЮ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИЕЙ

Маретина М.А.<sup>1</sup>, Цыганова Н.А.<sup>2</sup>, Штыкалова С.В.<sup>1,2</sup>, Егорова А.А.<sup>1</sup>, Валетдинова К.Р.<sup>3,4,5,6</sup>, Закиян С.М.<sup>3,4,5,6</sup>, Баранов В.С.<sup>1,2</sup>, Киселев А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта, Россия, Санкт-Петербург,

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург,

<sup>3</sup>ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Россия, Новосибирск,

<sup>4</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», Россия, Новосибирск,

<sup>5</sup>ФГБУ «СФБМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина», Россия, Новосибирск,

<sup>6</sup>ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Россия, Новосибирск,

[marianna0204@gmail.com](mailto:marianna0204@gmail.com)

Спинальная мышечная атрофия (СМА) – тяжелое аутосомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание. Основным симптомом является прогрессирующая мышечная слабость, которая возникает из-за потери функции мотонейронов передних рогов спинного мозга. В зависимости от тяжести и времени появления симптомов различают 4 основных формы СМА, самая тяжелая из которых развивается в младенчестве; самая легкая – во взрослом возрасте. Однозначного объяснения клинической гетерогенности болезни на сегодняшний день не существует. Основным модификатором тяжести заболевания является ген *SMN2*. Еще одним фактором, который может влиять на проявление СМА является метилирование ДНК. Ранее было показано, что изменения в уровне метилирования некоторых генов могут быть связаны с патогенезом и тяжестью СМА.

Данное исследование направлено на изучение характера метилирования генов на разных этапах дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) в мотонейроны. Материалом для данного исследования послужила ДНК, выделенная из культур фибробластов пациентов со СМА I типа, II типа и здорового индивида, а также из клеточных линий на разных этапах дифференцировки моторных нейронов из ИПСК, полученных в результате репрограммирования фибробластов.

В результате проведенного исследования был определен уровень метилирования регуляторных областей генов плюрипотентности: *OCT4* и *SALL4*; генов, вовлеченных в нейральную дифференцировку: *ISL1* и *OLIG2*, а также генов, для которых ранее было показана корреляция между уровнем метилирования CpG островков и тяжестью СМА: *DYNC1H1*, *SLC23A2* и *SMN*. В результате проведенного анализа были выявлены значимые различия в уровне метилирования регуляторных областей генов *OCT4*, *SALL4* и *SMN* между пациентами со СМА I типа, II типа и здоровым индивидом. Также было обнаружено понижение уровня метилирования промоторной области гена *OLIG2* у пациентов с I типом заболевания по сравнению со II типом СМА, и 41 экзона гена *DYNC1H1* у пациента со СМА I типа по сравнению со здоровым индивидом. Проведенный анализ важен для лучшего понимания молекулярных механизмов, лежащих в основе развития СМА, а также для выявления потенциальных факторов, влияющих на тяжесть заболевания. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-315-00258.

## ИНДУЦИРОВАННЫЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ДИНАМИЧЕСКОГО МОЗАИЦИЗМА КОЛЬЦЕВЫХ ХРОМОСОМ

Никитина Т.В.<sup>1</sup>, Мензоров А.Г.<sup>2,3</sup>, Васильев С.А.<sup>1</sup>, Гридина М.М.<sup>2</sup>, Хабарова А.А.<sup>2</sup>,  
Яковлева Ю.С.<sup>1,4</sup>, Распопова М.А.<sup>4</sup>, Кашеварова А.А.<sup>1</sup>, Серов О.Л.<sup>2,3</sup>, Лебедев И.Н.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> – НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, Россия, Томск, наб. Ушайки, 10.

<sup>2</sup> – ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10.

<sup>3</sup> – Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1.

<sup>4</sup> – Сибирский государственный медицинский университет, Россия, Томск, Московский тракт, 2.

[t.nikitina@medgenetics.ru](mailto:t.nikitina@medgenetics.ru)

Кольцевые хромосомы встречаются с частотой 1:50000 человек. Для клеток, несущих кольцевую хромосому, характерно явление «динамического мозаицизма». Вследствие возникающих при прохождении митоза вторичных перестроек, дочерние клетки могут быть частично или полностью анеуплоидными и отличаться сниженной пролиферативной активностью и/или жизнеспособностью, а носители - являться мозаиками по наличию кольцевых хромосом и их производных. Не существует однозначной корреляции между размером кольцевой хромосомы, распространенностью динамического мозаицизма и тяжестью фенотипических проявлений у пациента. Активно делящиеся клетки, какими являются ИПСК, могут служить удобной моделью для изучения митотической нестабильности кольцевых хромосом, однако существуют данные, что в плюрипотентном статусе клетки с кольцевой хромосомой могут быть терминальными и неделяющимися.

В настоящей работе впервые получены стабильные линии ИПСК с кольцевыми хромосомами 13 (4 линии) и 22 (2 линии). Все они были получены из фибробластов пациентов путем экзогенной экспрессии транскрипционных факторов KLF4, OCT4, SOX2 и с-МУС человека с использованием лентивирусных векторов LeGO, демонстрировали экспрессию маркеров плюрипотентности и способность к дифференцировке в производные трех зародышевых листков.

Четыре линии ИПСК с r(13) отличались разнообразием кариотипов. Две из них состояли преимущественно из клеток с кариотипом 46,XY,r(13) (65-98%). В двух других линиях на ранних пассажах отмечалась низкая частота клеток с кольцевой хромосомой, преобладали клетки с кариотипами 46,XY,-13,+mar и 45,XY,-13, однако после двух десятков пассажей превалирующими оказались субпопуляции клеток с r(13). Таким образом, примерно к 20 пассажу наблюдалась тенденция к снижению доли моносомных (45,XY,-13) или функционально близких к моносомии кариотипов (46,XY,-13,+mar), кариотип 46,XY,r(13) становился преобладающим во всех линиях независимо от предыдущего соотношения клеточных субпопуляций. Две линии с r(22) на протяжении десятков пассажей стабильно имели кариотип 46,XX,r(22) в 82-92% клеток с 8-14% моносомных клеток.

Таким образом, митотическая стабильность кольцевых хромосом в ИПСК отличается для линий с r(13) и r(22). Наблюдается разная степень динамического мозаицизма кольцевой хромосомы 13 в разных линиях ИПСК, а плюрипотентное состояние совместимо с довольно широким спектром кариотипов.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 16-15-10231.

## ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫЕ МЕЗЕНХИМНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА, ИЗБЕЖАВШИЕ КЛЕТОЧНОГО СТАРЕНИЯ ПОСЛЕ СУБЛЕТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕПЛООВОГО ШОКА, СОХРАНЯЮТ ГЕНЕТИЧЕСКУЮ БЕЗОПАСНОСТЬ

Шилина М.А., Гринчук Т.М., Алексеенко Л.Л., Анацкая О.В., Виноградов А.Е.,  
Никольский Н.Н.

*Институт цитологии Российской академии наук, Россия, Санкт-Петербург Тихорецкий  
проспект 4*

*shili-mariya@yandex.ru*

Стволовые клетки человека, используемые в целях регенеративной медицины должны характеризоваться геномной стабильностью. Предпосылкой к нарушениям в структуре генома могут быть различные экзогенные стрессовые воздействия. Целью настоящей было изучить клеточный ответ мезенхимных стволовых клеток человека на сублетальный тепловой шок (ТШ). Работа проводилась на клетках линии ЭМСК из десквамированного эндометрия. Клетки ЭМСК подвергали сублетальному температурному воздействию - 30 мин, 45С, после чего возвращали в нормальные условия культивирования 37С. В работе были использованы метод классического кариотипирования (G-banding), метод молекулярного кариотипирования, оценка клеток на старение, транскриптомный анализ. Установлено, что после ТШ, большая часть клеточной популяции подверглась стресс индуцированному преждевременному старению (SIPS), что было подтверждено изменением клеточной морфологии, остановкой пролиферации (клеточный цикл и кривые роста), усилением экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы p21, появлением маркера повреждения ДНК гистона  $\gamma$ H2AX и окраской на маркер клеточного старения X-gal. Пережившие ТШ ЭМСК (не подвергшаяся SIPS), после культивирования в течение 6 пассажей при температуре 37С были кариотипированы. Цитогенетический анализ выявил вспышку кариотипической нестабильности, связанную нарушением копийности хромосом и с появлением разнотипных хромосомных поломок. Анализ клеток методом молекулярного кариотипирования специфических изменений, связанных с температурным шоком, не выявил. Сопоставление результатов G-бэндинга и молекулярного кариотипирования позволяет заключить, что, хотя температурный стресс вызывает дестабилизацию структуры кариотипа, возникшие перестройки не связаны с молекулярными изменениями в структуре ДНК, носят случайный характер и не закрепляются отбором. Таким образом, наличие в кариотипе изученных ЭМСК хромосомных поломок до сего времени, рассматриваемых как один из возможных показателей клеточной трансформации, в нашем случае не может обсуждаться как один из показателей перехода клеток из нормального состояния в трансформированное. Подтверждением тому являются результаты транскриптомного анализа, которые выявили подавление в проанализированных клетках генов, участвующих в процессе клеточной трансформации. Отсутствие иммортализации изученных клеток было подтверждено фактом их реплекативного старения после 25-ого пассажа.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ.

**Симпозиум XV: Селекция и биотехнология животных / Symposium XV:  
Animal Biotechnology and Breeding****CRISP/CAS9 INTERSECTIONAL SOMATIC KNOCKOUTS TO STUDY  
INTRACELLULAR SIGNALING IN DEFINED NEURONAL CIRCUITS.**

Khlghatyan J., Beaulieu J.-M.

*Department of Pharmacology & Toxicology, University of Toronto, Medical Sciences Building,  
Toronto, ON M5S 1A8, Canada*

Gene products involved in disease processes and drug action are often expressed ubiquitously. Thus, their functional implication can be widely different in time (developmental stage) and space (brain region, neuronal circuit, particular cell type). Traditional gene targeting approaches have allowed systemic as well as region or cell type-selective gene knockouts. However, their resolution remains limited and does not allow for the investigation of gene functions within cellular subpopulations belonging to the same brain region or neuronal circuit at a specific developmental stage. We present an intersectional approach involving the combination of single guide RNA (sgRNA) viral delivery with Cre mediated conditional Cas9 expression to target gene expression only in specific subsets of neurons adult mice. When used in combination with a conditional RiboTag reporter system this approach allows to extract gene expression information specifically from targeted cells within a complex tissue architecture. As a proof of concept, we will present the use of a Crisp/Cas9 intersectional somatic knockout strategy targeting the ubiquitously expressed kinase GSK3 beta, specifically in medial prefrontal cortex neurons expressing the D2 dopamine receptor. These results underscore the viability of CRISPR/Cas9 based intersectional approaches to study gene functions in a network defined fashion. This can advance our understanding of gene expression at a brain circuit level and potentially lead to the development of circuit selective therapeutics.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОМИКСНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ МАРКЕРОВ КАЧЕСТВА ГАМЕТ В РЕПРОДУКЦИИ И СЕЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Узбекова С.В.<sup>1</sup>

*Physiology of Reproduction and Behavior Mixed Unit (PRC),*

*French National Institute for Agricultural Research (INRA) 37380 Nouzilly, FRANCE*

*svetlana.uzbekova@inra.fr*

Оценка качества гамет играет важную роль в репродукционных биотехнологиях, так как их высокое качество имеет важное значение для зачатия эмбрионов с полной способностью развития. Зрелые гаметы млекопитающих являются транскрипционно малоактивными клетками, следовательно, в поиске биомаркеров качества гамет анализ белков и/или метаболитов особенно важен.

Среди оригинальных омиксных технологий, разработанных в нашей лаборатории, протеомный анализ интактных клеток с помощью матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации и масс-спектрометрии (intact cell MALDI mass spectrometry, ICM-MS) с успехом применяется для молекулярного фенотипирования различных клеток и биологических жидкостей репродуктивной системы разных видов сельскохозяйственных животных. ICM-MS позволяет быстро исследовать небольшое количество необработанного биологического материала, например семени или фолликулярных клеток, и получить молекулярный профиль образца в относительно широком диапазоне масс (0.2-30 кДа). Создание математических моделей на основе ICM-MS фенотипирования семенного материала различных по фертильности животных, позволяет выявлять наиболее фертильных индивидумов и тем самым оптимизировать процесс селекции, как было показано на примере петухов [1]. Сходная технология применяется и для гамет рогатого скота, но отличие от сперматозоидов, основной проблемой ее применения к яйцеклеткам животных, таких как например, корова, является низкое содержание биологического материала в единичном ооците. Соматические клетки кумулюса, которые окружают ооцит и имеют с ним тесные межклеточные связи и общий метаболизм, также могут быть использованы для поиска биомаркеров качества гамет и полученных из них эмбрионов. Воспроизводимые белково-пептидные профили были получены на индивидуальных ооцитах коров и окружающих их клеток кумулюса. Количественный сравнительный анализ профилей клеток кумулюса незрелых и зрелых ооцитов позволил найти дифференциальные факторы, которые четко разделяют яйцеклетки по степени зрелости при помощи метода главных компонент [2]. Молекулярные профили клеток кумулюса позволяют также разделить ооциты с различной компетенцией к эмбриональному развитию.

Протеомные технологии с использованием масс-спектрометрии высокого разрешения позволяют идентифицировать белки и пептиды данных профилей. В сочетании с ICM-MS, применение данных технологий является перспективной стратегией для выявления молекулярных маркеров фертильности сельскохозяйственных животных.

[1]. Labas V. and Soler L., et al. Intact cell MALDI-TOF MS on sperm: a molecular test for male fertility diagnosis. // 2016, Mol Cell Proteomics, V.15(6), P.1998-2010.

[2]. Labas, V., Teixeira-Gomes,.. Uzbekova, S. Intact cell MALDI-TOF mass spectrometry on single bovine oocyte and follicular cells combined with top-down proteomics: A novel approach to characterise markers of oocyte maturation. // 2018, Journal of Proteomics, V. 175, P.56-74.

## MOLECULAR MARKERS: FROM MODERN GENERAL BIOLOGY PARADIGM VALIDATION TO SEA FOOD MISLABELING DETECTION

Kartavtsev Yu.Ph.

*National Scientific Center of Marine Biology,*

*Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Russia, Vladivostok 690041;*

*Far Eastern Federal University, Russia, Vladivostok 690091*

[yuri.kartavtsev48@hotmail.com](mailto:yuri.kartavtsev48@hotmail.com)

Literature and own data on the consistency of the latest molecular sequence data with the main modern paradigm, Neo-Darwinism are considered along with other relevant data on molecular markers (MM) usage, e.g. food sources mislabelling determination etc.

There are 5 main items of the report: (1) A combination of nuclear DNA (nDNA) and mitochondrial DNA (mtDNA) MM best suits the hybrid identification and estimation of the genetic introgression (gene flow). (2) Evidence that available for both nDNA and mtDNA diversity seemingly make the hybrid occurrence among many taxa of animals and plants obvious. Although even in the wide hybrid *Mytilus* spp. zones, for example, the genetic introgression may be quite restricted or asymmetric, thus holding at least the “source” taxon intact. (3) If admit that a sexually reproducing species in marine and terrestrial realms is introgressed, as it is still evident for many cases, then we should recognize that the orthodox Biological Species Concept (BSC), in terms of complete lack of gene flow among species, is inadequate due to the fact that many wild nature species are not biological species yet. However, sooner or later they definitely become biological species, thus returning validity to BSC. This conclusion is supported by the genetic distances, that are minimal intraspecies and increasing with taxa ranks, as evident for bulk single mtDNA genes, for complete mitogenomes, and for abundant representative nDNA observations [1-4]. (4) The investigation recently made on fish taxa divergence by the author using vast BOLD data [2], shows that gene trees investigated for taxa up to the family level are basically monophyletic, and interspecies reticulations are rare. (5) There are many other applications for MM in basic and applied science fields, like DNA barcoding of global biodiversity, forensics, international trading control that are included in the report.

Main outcomes from 5 above listed items have impact on the paradigms of evolutionary genetics, molecular systematics & phylogenetics, iBOL science policy and on the practice of species/specimens delimitation in particular. Common successful species delimiting, based on a widely applied barcoding technique, and reliable phylogeny reconstructions based on MM are possible due to the vast predominance of species origin throughout the geographic speciation mode and data fit to BSC.

[1] Kartavtsev Y.Ph. // *J. Phyl. Evol. Biol.* 2013b. 1(5). P. 1-4. 1000e107.

[2] Kartavtsev Yu. Ph. // *J. mtDNA.* 2018. V. 29 (4). P. 535–542.

[3] Hedges S.B., Marin J., Suleski M., Madeline P., Kumar S. // *Mol. Biol. Evol.* 2015. V. 32. P. 835-845.

[4] Kartavtsev Yu.Ph., Batischeva N.M., Bogutskaya N.G., Katugina A.O., Hanzawa N. // *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 2017. V.28 (4). P. 502-517.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ И МЕТАБАРКОДИНГА ДЛЯ АНАЛИЗА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ И КОРМОВ.

Попов В.Н.

Воронежский государственный университет

Высокопроизводительное секвенирование в совокупности описывает несколько технологий, которые обеспечивают массовое параллельное секвенирование гетерогенных фрагментов. Целью данной работы явилась оценка потенциала применения метабаркодинга ДНК, разновидности метода высокопроизводительного секвенирования при котором одновременно проводится баркодинг ДНК смесей организмов, присутствующих в пробе, в оценки микробиологического состава продуктов питания человека, кормов, пищевых ингредиентов и биологически активных добавок (пыльца, травяные лекарственные сборы). Выделение ДНК осуществляли с помощью набора ZymoBIOMICS DNA Kits (Zymo Research, США). Маркерные различных таксонов организмов последовательности ДНК амплифицировали с использованием универсальных праймеров для 16S рРНК и ITS. При помощи набора Ion AmpliSeq Library Kit 2.0 из полученных продуктов ПЦР готовили библиотеки для секвенирования. Секвенирование проводилось на платформе IonTorrent PGM с использованием набора Ion PGM Hi-Q View Sequencing Kit.

В пищевых ингредиентах и сывороточных белках были выявлены условно-патогенные микроорганизмы, такие как *Bacillus cereus*, *Enterococcus* sp., *Serratia* sp., *Staphylococcus epidermidis*, *Cronobacter sakazakii*. В пыльце собранной пчелами выявлен высокий уровень загрязнения бактериями семейства Enterobacteriaceae. Установлено, что коммерчески доступную молочную продукцию широко обсеменяют следующие роды бактерий: *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Acinetobacter* spp., *Moraxella* spp., *Klebsiella* spp., *Paenibacillus* spp., *Acetobacter* spp., *Enterobacter* spp.,. Эти бактерии способны вызывать порчу молочной продукции. Среди условно-патогенных бактерий в молоке и йогурте идентифицированы *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* и *Staphylococcus epidermidis*. Наибольшее количество условно-патогенных бактерий содержало сливочное масло. В сливочном масле идентифицированы: бактерии группы *Bacillus cereus*, а также *Cronobacter* sp., *Serratia* sp., *Staphylococcus* sp., *Cronobacter sakazakii*, *Enterobacter* sp. и *Proteus* sp. Эти таксоны бактерий могут вызывать различные заболевания человека при ослабленном иммунитете, в особенности у детей и людей пенсионного возраста.

Особое внимание при анализе было уделено обнаружению в пищевой продукции и кормах различных видов грибов. Был изучен их видовой состав, распространенность, обнаружен ряд патогенных форм.

Таким образом, в ходе проведенных исследований было показано, что высокопроизводительное секвенирование способно быть универсальным методом контроля микробного загрязнения пищевой продукции и кормов.

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛАССИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ У КУР: ФАКТЫ И ГИПОТЕЗЫ

Галкина С.А.<sup>1</sup>, Сайфитдинова А.Ф.<sup>1</sup>, Комиссаров А.С.<sup>1</sup>, Кулак М.М.<sup>1</sup>, Володькина В.А.<sup>1</sup>, Гагинская Е.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, 199034  
[svetlana.galkina@spbu.ru](mailto:svetlana.galkina@spbu.ru)

История исследования генетики домашней курицы насчитывает более ста лет. Курица была первым видом животных, для которого было продемонстрировано менделевское наследование, а столетие спустя, геном курицы, как важнейшего объекта сельского хозяйства, пищевой промышленности и биомедицинских исследований, был секвенирован. Длительная селекция привела к появлению многочисленных фенотипически разнообразных пород и линий домашних кур, каждая из которых обогащена мутациями, влияющими на селективируемые признаки.

В настоящее время известно, что кариотип курицы состоит из 78 макро- и микрохромосом, которые довольно подробно исследованы на стадии митоза, пахитены и диплотены мейоза. В текущей версии собранного генома курицы представлены последовательности для 35 хромосом (33 аутосом и хромосом Z и W). Установлены и молекулярные основы некоторых классических фенотипических признаков, описанных в начале 20-го века. Так, курчавое и шелковое оперение обусловлены мутациями в последовательностях конкретных генов. В основе возникновения признака голошейности, также как и трех известных вариантов формы гребня - розовидного, гороховидного, раздвоенного – лежат структурные перестройки генома (инсерции и дубликации), а не нуклеотидные замены. Инсерции последовательностей эндогенных вирусов и ретротранспозонов, влияющих на экспрессию прилежащих генов, приводят к появлению голубой окраски скорлупы яиц и рецессивного признака белого оперения. Вместе с тем, молекулярные основы многих, даже моногенно наследуемых признаков, остаются по-прежнему загадкой.

Один из нерешенных вопросов – роль хромосомы W в определении пола у курицы. Ее состав подробно охарактеризован, однако в отличие от хромосомы Y млекопитающих, роль хромосомы W в регуляции половой дифференцировки мало понятна. Все кодирующие белок последовательности в W курицы имеют гомологичные последовательности в хромосоме Z. Доказано критическое значение дозы этих генов для выживания особи, однако их участие в половой дифференцировке и механизм этого участия остаются неизвестными. Геном курицы (~ 1,2 млрд.п.н.) характеризуется низким содержанием повторяющейся ДНК, причем у курицы около половины tandemных повторов ДНК сконцентрированы в половой хромосоме W. Обсуждаются вопросы функциональной роли в геноме кур повторяющихся последовательностей и их экспрессии.

**Благодарности:** Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-04-01823а, проекта СПбГУ №1.40.1625.2017, Центра геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского и РЦ ЦКП «Хромас» Научного парка СПбГУ.

## ПЕРСПЕКТИВА ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ МОЛОЧНОГО СКОТА В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Смарагдов М.Г., Кудинов А.А.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных», Россия, г. Санкт-Петербург, Московское шоссе, д. 55а,  
kudinov\_aa@list.ru*

В декабре 2007 года фирма ILLUMINA выпустила на международный рынок BovineSNP50 чип. Сначала американские, а затем селекционеры из всех стран с развитым молочным животноводством приступили к осуществлению геномной селекции. Успехи геномной селекции за пять лет ее применения в молочном животноводстве приводятся в обзоре [1]. Для объединения ресурсов стран были созданы два консорциума – североамериканский, включающий США, Канаду, Великобританию, Италию, Швейцарию и Японию и европейский - Eurogenomics, включающий Испанию, Голландию, Францию, Польшу, Данию, Швецию и Финляндию. В США занимающей лидирующую позицию в геномной селекции 32 продуктивных, экстернерных и воспроизводительных признаков включены в селекционный индекс. Для продуктивных признаков ежегодный генетический прогресс увеличился с 50% до 100% и в 3-4 раза для признаков с низкой наследуемостью. После двух поколений геномной селекции голштинского скота генерационный интервал на пути бык-производитель – бык и мать быка – корова сократился с 7 лет до 2.4 года и 5 лет соответственно, увеличилась достоверность оценки молодых быков в зависимости от признака до более 70%, уменьшилась стоимость племенной оценки и были идентифицированы рецессивные летальные мутации. В США и Ирландии за прошедшие годы генотипированы десятки тысяч быков и несколько миллионов коров.

Отсутствие геномной селекции молочного скота в России определяется двумя факторами: 1. Необходимо внедрение в стране современного метода племенной оценки быков и коров ANIMAL MODEL. 2. Для генотипирования животных SNPs чипами необходимо государственное или частное финансирование. При поддержке комитета по АПК Ленинградской области, группой ученых из ВНИИГРЖ были разработаны модели оценки традиционной и геномной племенной ценности признаков молочной продуктивности голштинизированного черно-пестрого скота. С использованием плотных SNP-чипов было генотипировано 300 племенных быков и 1000 коров Ленинградской области. Повышение достоверности прогноза племенной ценности за счет использования генотипов выросло на 12 – 25 процентов для отдельных особей, доказав эффективность метода, даже на примере малочисленной референтной популяции [2].

1. Smaragdov M.G. Genomic selection of milk cattle. The practical application over five years. // 2013, Rus. J. Genetics, V.49, P.1251-1260.
2. Kudinov A. A., Juga J., Mäntysaari E.A., Strandén I., Saksa E. I., Smaragdov M. G., Uimari P. Developing a genetic evaluation system for milk traits in Russian black and white dairy cattle. // 2018, Agricultural and Food Science, V. 27, P. 85-95.

## СИНАПСИС И РЕКОМБИНАЦИЯ У БАРАНОВ, ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ ПО МЕТАЦЕНТРИЧЕСКОЙ ХРОМОСОМЕ 3 ДОМАШНЕЙ ОВЦЫ *OVIS ARIES* И АКРОЦЕНТРИЧЕСКИМ ГОМОЛОГАМ АРХАРА *OVIS AMMON*

Бикчурин Т.И.<sup>1,2,3</sup>, Багиров В.А.<sup>3</sup>, Волкова Н.А.<sup>3</sup>, Бородин П.М.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 2;

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

<sup>3</sup>Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Россия, г. о. Подольск, п. Дубровицы, дом 60

[t.bikchurina@g.nsu.ru](mailto:t.bikchurina@g.nsu.ru)

Одним из перспективных методов повышения генетического разнообразия сельскохозяйственных животных является гибридизация одомашненных видов с их ближайшими дикими родственными видами. Кариотип домашней овцы *Ovis aries* ( $2n=54$ ) отличаются от кариотипа архара *O. ammon* ( $2n=56$ ) по Робертсоновской транслокации хромосом 5 и 11 архара (по стандартной номенклатуре хромосом Bovidae) [1] в хромосому 3 овцы, что делает архара потенциальным источником селекционного материала. Известно, что гетерозиготность по транслокациям может приводить к нарушениям синапсиса, рекомбинации и сегрегации хромосом в мейозе. Особенности протекания мейоза у баранов, гетерозиготных по транслокации, различающей кариотипы овец и архаров, до сих пор не исследованы.

С помощью метода иммунолокализации ключевых белков мейоза мы изучали синапсис и рекомбинацию хромосом, вовлеченных в данную перестройку у гетерозигот. На стадии ранней пахитены в небольшой доле клеток у гетерозигот по транслокации наблюдалась задержка синапсиса в перицентромерных районах тривалента, образованного хромосомами 3 овцы и их гомологами архара. Все асинапсированные участки хромосом, в том числе и тривалента, подвергались фосфорилированию гистона H2A.X по 139 серину. Эта эпигенетическая метка маркирует участки хроматина с нерепарированными двунитевыми разрывами. На стадии поздней пахитены мы наблюдали полный синапсис между метацентрической хромосомой овцы и двумя акроцентрическими хромосомами архара. Асинапсис замещался негомологичным синапсисом между перицентромерными районами акроцентрических хромосом. Сигнал  $\gamma$ H2A.X сохранялся только на половом биваленте и отсутствовал на триваленте.

По числу и распределению рекомбинационных сайтов, степени центромерной и кроссоверной интерференции транслокационный тривалент не отличался от нормальных бивалентов метацентрических хромосом.

Результаты нашей работы показывают, что гетерозиготность по хромосоме 3 домашней овцы и хромосомам 5 и 11 архара не вызывает существенных изменений в ключевых процессах профазы I мейоза и, следовательно, не должна приводить к снижению плодовитости у потомков от межвидовой гибридизации овец.

[1]. Popescu C.P., Long S., Riggs P., Womack J., Schmutz S., Fries R., Gallagher D.S., Standardization of cattle karyotype nomenclature: Report of the committee for the standardization of the cattle karyotype. // 1996, Cytogenet Genome Res. V.74, P.259–261.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ (№ 18-16-00079).

## СИСТЕМА КОНТРОЛЯ ПЛЕМЕННОЙ ЦЕННОСТИ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПОРОДНЫХ ЛИНИЙ

Николенко А.Г., Каскинова М.Д., Гайфуллина Л.Р., Салтыкова Е.С.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Россия, Уфа, проспект Октября, д. 71, 1Е.

[a-nikolenko@yandex.ru](mailto:a-nikolenko@yandex.ru)

Сложность эусоциального устройства пчелиной семьи до сих пор не позволила создать ни одной породы, отличной от естественного подвида. Генетические особенности пчелы (полиандрия, неконтролируемость скрещивания, интенсивный кроссинговер) делают бессильными классические методы, а относительно низкая стоимость и недолговечность пчелиной семьи экономически ограничивают применение современных методов геномного контроля. Сложность сплошного анализа поголовья вызывает большие трудности для сохранения генофонда среднерусской породы (единственного аборигенного для России подвида тёмная лесная пчелы), не говоря уже об создании генетически однородных линий для промышленного пчеловодства. Уровень интрогрессии генов других подвидов в бурзянской популяции с 1999 по 2018 год вырос с приемлемого 0.05 до критического 0.12. Целью нашей работы было создание методологии для сохранения генофонда и получения линий тёмной лесной пчелы на основе системы контроля племенной ценности. Нам удалось, с одной стороны, адаптировать современные возможности генетики к особенностям объекта, с другой, использовать естественные возможности для удешевления процесса селекции. Был разработан новый экономически эффективный SSR-метод выявления и мониторинга ареалов чистопородного расселения, определения зон, перспективных для восстановления ареала тёмной лесной пчелы. Выделены 10 заказников РБ для создания селекционных пасек и репродукторов. Обеспечение естественного оплодотворения вместо инструментального осеменения обеспечит существенное повышение качества маток. На основе SNPs найдены маркеры для дальнейшей после получения генетически однородной линии селекции по ХПП (полиморфизм гена пола, устойчивость к аскосферозу, очистительная активность, нектаропродуктивность и др.). Разработана адаптированная к нашим условиям BLUP-система обратной связи между селекционными, репродукторами и товарными пасеками (оптимальные показатели, методология измерения (время, показатель, метод), формы передачи информации). Выделены естественные ареалы тёмной лесной пчелы, создан новый, основанный на ДНК-анализе, реестр племенных пасек *A.m.mellifera* в России. Создана система информационной поддержки пчеловодов – участников проекта. Разработанная методология положена в основу реализации утверждённой Правительством РБ на 2019-2025 гг. государственной программы «Алтын Солок» [1].

[1] [https://pravitelstvorb.ru/ru/press-office/news.php?ELEMENT\\_ID=19430](https://pravitelstvorb.ru/ru/press-office/news.php?ELEMENT_ID=19430).

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-44-020648.

## НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ДЕФЕКТЫ, ВЫЯВЛЕННЫЕ В БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ГАПЛОТИПАМИ ФЕРТИЛЬНОСТИ

Михайлова М.Е., Киреева А.И., Романишко Е.Л., Камыш Н.А., Тиханович Н.И., Шейко Р.И.

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Республика Беларусь, 220072, г. Минск, Академическая, 27, тел. +(375)17-399-32-05,*

*M.Mikhailova@igc.by*

Интенсивная селекция молочного скота за последние десятилетия в мире привела к значительному повышению молочной продуктивности. В Беларуси надой на 1 корову в 50 элитных аграрных хозяйствах достигает 10 тыс. литров молока в год. Однако, на фоне постоянного увеличения продуктивности у коров голштинской породы наблюдается снижение репродуктивной способности, которая связана с мутациями в геноме. Это вызвано ведением жесткой селекцией по ограниченному числу признаков продуктивности и использованием искусственного осеменения небольшим количеством лучших быков-производителей, что и привело к снижению генетической изменчивости, которая сопряжена с неконтролируемым появлением и распространением наследственных дефектов, приведших к снижению репродуктивных качеств коров и как следствие - к убыткам, так как уменьшается производство молока из-за отсутствия лактационного периода у коров. Известны мутации наследственных заболеваний, связанные с пониженной плодовитостью КРС: дефицит уридин-монофосфатсинтазы (DUMPS), дефицит лейкоцитарной адгезии (BLAD), комплексный порок позвоночника (CVM), брахиспинальный синдром (BY), а наряду с традиционной аббревиатурой, это гаплотипы фертильности (ННД, ННВ, ННС, НН0). В настоящее время выявлены новые мутации, ассоциированные с гаплотипами фертильности: НН1 (*APAF1*, C→T, Q579X), НН3 (*SMC2*, T→C, F1135S), НН4 (*GART*, A→C, N290T), НН5 (*TFB1M*, 138kb Del), НСD (*APOB*, 1,3 kb Ins). Нами продолжен скрининг племенных стад на выявление мутаций в генах *FANCI*, *SLC35A3*, *ITGB2*, *DUMPS* (гаплотипы фертильности НН0, ННС, ННВ, ННД), а также впервые в Беларуси с помощью разработанных нами ДНК-технологий, проведен мониторинг популяций скота, направленный на выявление животных-носителей LoF-мутаций в генах *APAF1*, *SMC2*, *GART*, *TFB1M*, *APOB*, ассоциированных с гаплотипами фертильности, таких как НН1, НН3, НН4, НН5, НСD. Исследовано поголовье скота (614 особей). Определена частота животных-носителей мутаций, ассоциированных с плодовитостью КРС в Беларуси, а именно: гаплотипы фертильности НН1 – 3,94 %, НН3 – 2,6 %, НН4 – 0,66 %, НН5 – 2,7 %, НСD – 1,35 %, НН0 – 5,71 %, ННВ – 0,44 %, ННС – 2,67 %, ННД – 0%. Полученные результаты согласуются с литературными данными. Это подтверждает важность проводимых исследований. Рекомендации по элиминации вредных рецессивных мутаций, приводящие к снижению репродуктивных качеств коров, расширяют возможности повышения молочной продуктивности и позволяет сделать вклад в совершенствование генофонда белорусских популяций КРС.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена в рамках задания «Разработать ДНК-маркирование генов на основе однонуклеотидных замен (SNaPshot анализ), определяющих фертильность и молочную продуктивность крупного рогатого скота» подпрограммы 1 «Инновационные биотехнологии - 2020» ГП «Наукоёмкие технологии и техника» на 2016-2020 годы.

## ПОЛУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИНИЙ МЫШЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ CRISPR/CAS9 СИСТЕМЫ

Леонова Е.И., Гайнетдинов Р.Р.

*Институт Трансляционной биомедицины СПбГУ, Санкт Петербург*

Создание животных, моделирующих заболевания человека с помощью внесения в геном различных мутаций, является важным этапом при разработке лекарственных препаратов и их оценке перед клиническими испытаниями. Очевидно, что грызуны не являются точной копией человека, и не все мутации в их генах могут вызывать аналогичный эффект у человека. И, тем не менее, исследования, проведенные на генно-модифицированных животных, это очень важный источник информативного сравнения работы генов, выявления их связи с тем или иным заболеванием и трансляции результатов, полученных на животных моделях, на человека. Появление новой технологии редактирования генома CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/Cas (CRISPR-associated nuclease) открыло новую эпоху в генной инженерии, благодаря своей ошеломляющей эффективности и простому манипулированию. Более того, данная технология позволила вводить конструкцию CRISPR/CAS непосредственно в зиготу, что существенно сократило время получения первых мутантных животных. Это вдохновило нас в 2018 организовать Центр трансгенеза на базе Института трансляционной биомедицины СПбГУ. Наш Центр имеет все необходимое оборудование, как для создания генно-модифицированных мышей, так и для криоаморозки, полученных эмбрионов с целью дальнейшей трансплантации в матку мышци-реципиента. Благодаря технологии CRISPR/Cas9 мы стали разрабатывать и внедрять в научный оборот новые линии нокаутных мышей. Суть CRISPR/CAS системы заключается в том, что РНК-направляемая CAS-эндонуклеаза вносит двухцепочечный разрыв в исследуемый ген, активируя, таким образом, систему SOS-репарации клетки, известную своей способностью работать быстро, но с ошибками. Таким образом, в районе внесенного разрыва образуется мутация, как правило – это небольшая вставка или делеция, которая может привести к дезактивации работы гена. К настоящему времени нам удалось получить две линии мышей, нокаутированных по генам *taar6* (trace amine associated receptor 6) и *f9* (фактор свертывания крови IX). Созданная нами *TAAR6*<sup>-/-</sup> линия мышей содержит вставку из 50 пар нуклеотидов в одноэкзонном гене, а линия *FIX*<sup>-/-</sup> - делецию из 4 пар нуклеотидов в первом экзоне гена. Мутации в обоих генах привели к сдвигу рамок считывания и, как результат, образованию стоп-кодона при трансляции мРНК. На данный момент ведутся работы по получению других нокаутных линий мышей, в частности линии *TAAR8*<sup>-/-</sup>.

## Симпозиум XVI: Регуляция действия гена и эпигенетика / Symposium XVI: Regulation of Gene Expression and Epigenetics

### СКРИНИНГ БИОРАЗНООБРАЗИЯ

Габибов А.

*Институт биоорганической химии им. Шемякина и Овчинникова РАН*

Комбинаторная химия и биология стали отличительной чертой науки о жизни в XXI веке. Для скрининга больших репертуаров белков и клеточных клонов необходимо разработать чувствительные системы обнаружения новых клонов и создать высокопроизводительные скрининг-платформы. Мы разработали микрофлюидные подходы для скрининга микробиоты, биокаталитических клонов, разнообразия антител и специфических химерных антигенных рецепторов (CAR therapy). Этот подход рассмотрен для эффективного и безопасного лечения фолликулярной лимфомы. Поскольку лимфома обладает клональной злокачественностью, каждая опухоль имеет на поверхности клетки различные специфические антитела. Мы разработали принципы комбинаторного аутокринного скрининга. Из пептидной библиотеки находятся антигенные пептиды к В-клеточным рецепторам на поверхности опухолевых клеток. Выбранные лиганды используются в формате CAR-T (химерных Т рецепторов) для перепрограммирования цитолитических лимфоцитов человека (CTL). Методы сверхвысокопроизводительного скрининга могут помочь идентифицировать уникальную функциональность клеток из миллионов вариантов. В *in vivo* варианте мы разработали метод, основанный на одноклеточной инкапсуляции в каплях монодисперсной микрожидкостной двойной эмульсии, вода-масло- вода (MDE). Биосовместимый MDE метод позволяет выращивать капли, содержащие различные клоны. Комбинация капельного оборудования с проточной цитофлуориметрией FACS с последующим полногеномным секвенированием и жидкостной хроматографией-масс-спектрометрическим анализом секретов инкапсулированных организмов дала подробные описания генотипа / фенотипа ряда микроорганизмов. Эта платформа была протестирована с биофармацевтическими препаратами, экспрессированными на поверхности дрожжевых клеток. Было достигнуто обогащение, близкое к теоретическому пределу. Универсальность соединения была идентифицирована как обладающая ингибирующей активностью, включая медленно растущие виды микроорганизмов, которые подавляют рост общего патогена, *Staphylococcus aureus*. Выбор *in vitro* антител из больших репертуаров с использованием комбинаторных библиотек является мощным инструментом, обладающим большим потенциалом для создания акцепторов для токсинов. Мы предложили имитировать стадии созревания антител с помощью виртуального скрининга виртуальных библиотек. Мы достигли этой цели с помощью квантовой механики / молекулярной механики (QM / MM).

## ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРА СБОРКИ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ХРОМАТИНА CHD1.

Конев А.Ю.<sup>1</sup>, Тютюнник А.А.<sup>1</sup>, Ильина Ю.А.<sup>1</sup>, Барановская И.Л.<sup>1</sup>, Кучинская Я.А.<sup>1</sup>,  
Торощина А.В.<sup>1</sup>, Гненная Ю.А.<sup>1</sup>, Шалаев А.В.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, Россия, Гатчина, Орлова роща д. 1

[konev\\_ay@pnp.i.nrcki.ru](mailto:konev_ay@pnp.i.nrcki.ru)

CHD1 является первым АТФ – зависимым фактором сборки хроматина, для которого продемонстрировано участие в сборке хроматина *in vivo*. Исследование морфологии политечных хромосом нуль-мутантных гену *Chd1* личинок показало, что X-хромосома нуль-мутантных по гену *Chd1[1]* самцов становится измененной. Наши исследования свидетельствуют о существовании специфичного механизма привлечения CHD1 к X-хромосоме самцов, отличного от механизмов привлечения этого белка к другим сайтам в геноме в процессе активной транскрипции. Локализация белка CHD1 и белков комплекса MSL в X-хромосоме самцов практически полностью совпадают. Сочетание делеций одного из генов, кодирующих вариант гистон H3.3 - His3.3B с нуль-мутациями по гену *Chd1* приводит к синтетической летальности, т.е. при снижении количества гистона H3.3, *Chd1* становится существенным геном. Делеция гена His3.3B приводит к усилению влияния *Chd1* на структуру X-хромосомы самцов. Экспрессия как каталитически не активной формы белка CHD1, и так и белка дикого типа под действием драйвера P{GawB}AB1 приводит к появлению в хромосомах многочисленных деконденсированных районов, ярко окрашиваемых антителами на белок CHD1 и РНК-полимеразу II. Проведено детальное картирование деконденсированных участков хромосом и изучено изменение характера пуффирования в ходе развития дрозофилы. Сверх-экспрессия белка как нативной, так и доминант-негативной форм белка CHD1 приводит к нарушению нормального характера пуффирования и смешению пуфвых паттернов, характерных для различных пуфвых стадий. Привлечение каталитически не активной формы CHD1 вызывает задержку регрессии ряда регулируемых в развитии экдизон-индуцируемых пуфов и нарушение своевременной репрессии транскрипции определенных регулируемых в развитии генов. Сверх-экспрессия белка CHD1 дикого типа приводит к деконденсации гетерохроматиновых районов политечных хромосом и 4й хромосомы. Привлечение CHD1 к гетерохроматиновым последовательностям приводит к отсутствию в деконденсированных районах линкерного гистона H1 и увеличению в политечных хромосомах степени репликации локализованных в X-хромосоме повторяющихся последовательностей. Результаты наших исследований свидетельствуют, что, возникающие при сверх-экспрессии CHD1 изменения структуры хромосом связаны с не только с его ремоделирующей активностью, но и с повышенным привлечением взаимодействующих с CHD1 белков к определенным сайтам в геноме.

## EXPRESSION OF EPIGENETIC PROTEINS AND HISTONE MODIFICATIONS IN PENUMBRA IN THE RAT CEREBRAL CORTEX AFTER PHOTOTHROMBOTIC STROKE

Demyanenko S.V., Dzreyan V.A., Guzenko V.V., Uzdensky A.B.

*Laboratory of Molecular Neurobiology, Southern Federal University, Rostov-on-Don,  
pr. Stachky 194/1, Russia.*

*auzd@yandex.ru*

Stroke is the leading cause of human death and disability. In ischemic stroke vascular occlusion and energy deficit rapidly induce tissue infarct. Cell protection in infarct core is impossible, but during next hours the cell damage spreads to surrounding tissues and forms the transition zone (penumbra), which is potentially salvageable. However, reliable neuroprotectors are not found yet. Epigenetic processes such as covalent histone modifications play a pivotal role in global regulation of transcriptional activity of the genome. We studied some epigenetic mechanisms involved in the penumbra formation after photothrombotic infarct (a model of ischemic stroke) in the rat cerebral cortex. Photothrombosis was induced by local laser irradiation of the rat cerebral cortex after i.v. administration of Rose Bengal, which does not penetrate cells and remains in the bloodstream. Under light exposure it induces oxidative vascular lesion, thrombi formation and occlusion of small vessels. We observed the reduced acetylation of lysine 9 and phosphorylation of serine 10 in histone H3 in the ischemic penumbra (2-mm width ring around the infarct core) at 1, 4 or 24 hours after photothrombotic stroke. Deacetylation of histone H3 leads to chromatin condensation and suppression of its transcriptional activity. This effect could be initially (at 1 h after stroke) associated with increased expression of histone deacetylases HDAC1. Later, at 4-24 h, it was additionally enhanced by the over-expression of HDAC2 and HDAC4. Histone acetyltransferases HAT1 and PSAF were also up-regulated in the penumbra, but lesser and later (at 4-24 and 24 h, respectively). The expression of histone methyltransferase SUV39H1 did not change significantly in the penumbra. HDAC1 and HDAC2 but not HDAC4 may be potential targets for anti-stroke therapy, and their inhibitors can be prospective neuroprotective anti-stroke drugs. Supported by the Russian Science Foundation (#18-15-00110). A.B. Uzdensky was supported Russian Ministry of Education and Science (grant "Research organization" #6.4951.2017/6.7).

## МЕТИЛИРОВАНИЕ ПСЕВДОГЕНА *PTENP1* В ТКАНЯХ ЭНДОМЕТРИЯ И РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЯХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Коваленко Т.Ф.<sup>1</sup> Морозова К.В.<sup>2</sup>, Лапина И.А.<sup>2</sup>, Бобров М.Ю.<sup>3</sup>, Озолия Л.А.<sup>2</sup>, Патрушев Л.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1; <sup>3</sup>ФБГУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

[t\\_kov@mail.ru](mailto:t_kov@mail.ru)

Ген опухолевого супрессора *PTEN* имеет процессированный псевдоген *PTENP1*. Транскрипты *PTENP1* участвуют в регуляции экспрессии гена *PTEN*: смысловая РНК (сРНК) и антисмысловая РНК-β (асРНК-β) являются позитивными регуляторами экспрессии, в то время как антисмысловая РНК-α (асРНК-α) - негативный регулятор. Целью данной работы явилось исследование метилирования псевдогена *PTENP1* в малигнизированных и немалигнизированных тканях эндометрия и различных линиях клеток человека, а также изучение влияния метилирования на экспрессию данного псевдогена. Образцы ткани нормального эндометрия были взяты от женщин трех групп: 17-34 лет – 24 образца, 35–44 лет – 22 и 45–65 лет – 19 образцов. Группа больных гиперплазией эндометрия (ГПЭ) включала две подгруппы: 35 - 44 лет – 16 пациенток, 45 - 65 лет – 43 человека. Были также взяты образцы опухолевой ткани от 24 больных раком эндометрия (РЭ) (48 - 59 лет). В исследование были включены 8 линий клеток человека: HEK 293, MRC-5, MCF-7, HepG2, SCOV-3, SKBR-3, Colo-357 и HeLa. ДНК из клеток и тканей и РНК из клеток выделяли стандартным фенольным методом. Метилирование псевдогена исследовали методом метилчувствительной ПЦР. Транскрипты *PTENP1* детектировали с помощью ПЦР с обратной транскрипцией. Деметилирование ДНК в клеточных культурах проводили путем их инкубации с 5-азациитидином. В результате нами не было выявлено статистически значимых различий в частотах метилирования *PTENP1* у лиц старше 45 лет с нормальным эндометрием, ГПЭ и РЭ (58%, 74,4% и 70,8% соответственно). Не обнаружено различий и в частотах метилирования псевдогена у женщин от 35 до 44 лет с нормальным эндометрием и с ГПЭ (18% и 25 % соответственно). Однако были выявлены достоверные различия в частотах метилирования между тремя возрастными группами лиц с нормальным эндометрием (4%, 18% и 58% соответственно). Также были обнаружены различия в частотах метилирования между двумя возрастными группами пациенток с ГПЭ (25% и 74,4%). Метилирование *PTENP* детектировалось в 5 из 8 линий: MRC-5, MCF-7, HepG2, SCOV-3 и HeLa. сРНК и асРНК-β выявлялись во всех линиях, кроме HepG2, асРНК-α отсутствовала в линиях с метилированным *PTENP1*. После проведения деметилирования экспрессия асРНК-α восстанавливалась. Полученные результаты позволяют предположить, что метилирование *PTENP1* отражает возрастные изменения в эндометрии. Кроме того, метилирование псевдогена подавляет образование ингибирующей асРНК-α и, следовательно, может выполнять функции позитивного регулятора экспрессии гена *PTEN*.

## ХРОМАТИНОВЫЕ ДОМЕНЫ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ В ИНТЕРФАЗНОМ ЯДРЕ И НА СТАДИИ ХРОМОСОМ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК

Красикова А.В.<sup>1</sup>, Фишман В.С.<sup>2,3</sup>, Нуритдинов М.А.<sup>2,3</sup>, Батулин Н.Р.<sup>2,3</sup>, Серов О.Л.<sup>2,3</sup>,  
Лир Т.<sup>4</sup>, Маслова А.В.<sup>1</sup>, Старшова П.А.<sup>1</sup>, Суркова А.Ю.<sup>1</sup>, Куликова Т.В.<sup>1</sup>, Злотина  
А.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Институт цитологии и генетики, СО РАН, Россия

<sup>3</sup> Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

<sup>4</sup> Институт генетики человека, Йена, Германия

[alla.krasikova@gmail.com](mailto:alla.krasikova@gmail.com)

Пространственная организация генома в интерфазном ядре играет ключевую роль в регуляции экспрессии генов, благодаря тесной взаимосвязи между иерархическими уровнями упаковки генома и его функциональной активностью. Сочетание современных биохимических и биоинформатических подходов позволили обнаружить в интерфазном ядре хроматиновые нанодомены, в том числе топологически-ассоциированные домены (ТАД) и А/В компартменты. В настоящей работе мы провели аннотацию пространственных взаимодействий в геноме домашней курицы (*Gallus gallus domesticus*) с помощью полногеномного метода Hi-C, что позволило идентифицировать в эмбриональных фибробластах курицы ряд иерархических структурных доменов хроматина, таких как А и В компартменты и топологически-ассоциированные домены. Мы показали, что ТАД в геноме эмбриональных фибробластов распределены в соответствии с плотностью генов, транскрипционной активностью и сайтами связывания CTCF. Полученные результаты верифицированы с помощью 3D-FISH с использованием в качестве зондов фрагментов генома курицы из соседних ТАД. Вместе с тем, мы обнаружили, что в зрелых эритроцитах курицы не сохраняются «классические» ТАД, что коррелирует со значительными изменениями в крупномасштабной архитектуре генома и инактивацией транскрипции.

Остается неясным, как соотносятся определяемые с помощью технологий захвата конформации хроматина домены, в том числе ТАД и А/В компартменты, с доменами хроматина, выявляемыми на цитологическом уровне. Чтобы прояснить этот вопрос, мы провели высокоразрешающее картирование хроматиновых доменов на гигантских хромосомах типа ламповых щеток, характерных для растущих ооцитов курицы. С помощью секвенирования фрагментов ДНК диссектированных хромомеров нескольких макрохромосом и картирования ряда ВАС-клонов, содержащих фрагменты ДНК из соседних ТАД, мы получили первые данные, позволяющие сопоставить хроматиновые домены интерфазного ядра и хромомеры хромосом типа ламповых щеток.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РНФ (14-14-00131) и гранта Президента РФ (МК-1630.2017.4). Авторы выражают благодарность ресурсным центрам Научного парка СПбГУ «Биобанк» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

## ОСНОВНАЯ И СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЕ ФУНКЦИИ ЭВОЛЮЦИОННО КОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА NXF1 (NUCLEAR EXPORT FACTOR 1) У ЖИВОТНЫХ

Мамон Л.А., Гинанова В.Р., Якимова А.О., Кливер С.Ф., Пасынков А.И., Голубкова Е.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Российская Федерация,  
Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9  
[tamon@lm2010.spb.edu](mailto:tamon@lm2010.spb.edu)

Эволюционно консервативный РНК-связывающий белок NXF1 (Nuclear eXport Factor 1) есть у большинства эукариот. Он входит в состав макромолекулярных комплексов, обеспечивающих ядерно-цитоплазматический экспорт большинства мРНК. Ген *Nxf1*, как и многие другие гены, участвующие в сохранении и реализации генетической информации, является полифункциональным. Он участвует в метаболизме мРНК не только на этапе ядерного экспорта. Одним из механизмов функциональной сложности подобных генов является многообразие их продуктов. Мы впервые показали, что гену *Dm Nxf1 (sbr)* соответствует более 10 различных транскриптов и не менее трех белковых изоформ, большинство из которых органоспецифичны. Укороченный семенниково-специфичный белок NXF1 не содержит сигнала ядерной локализации и может участвовать в метаболизме долгоживущих мРНК в спермиогенезе. Для гена *Nxf1* млекопитающих не известны семенниково-специфичные транскрипты, но есть семенниково-специфичные гены-паралоги семейства *Nxf*. Как мы показали, общим для генов *Nxf1* всех животных является существование транскрипта, сохраняющего гомологичный интрон. Сохраняемый интрон имеет эволюционно консервативные последовательности, специфичные для соответствующих таксонов. У дрозофилы – это две протяженные последовательности поли(А), а у млекопитающих – четыре эволюционно консервативных участка. Последовательность СТЕ (Constitutive Transport Element) в интроне гена *Nxf1* у млекопитающих обеспечивает интрон-содержащему транскрипту преимущества, как на уровне ядерного экспорта, так и на уровне трансляции [1]. Последовательности поли(А) в интроне гена *Dm Nxf1* у дрозофилы значимы как для экспорта мРНК, так и пост-транскрипционной судьбы транскрипта. У дрозофилы транскрипт гена *Nxf1*, сохранивший интрон, проявляет органоспецифичность, являясь преимущественным для тканей головы. У млекопитающих короткий белок, соответствующий интрон-содержащему транскрипту гена *Nxf1*, неслучайно распределяется в мозге грызунов, обогащая клетки гиппокампа и неокортекса [1]. Неслучайная локализация в цитоплазме различных клеток дрозофилы короткого белка NXF1 свидетельствует о его специализации в отношении определенных долгоживущих мРНК, среди которых могут быть те, которые необходимы для формирования и функционирования нервных клеток.

1. Li Y. et al., An NXF1 mRNA with a retained intron is expressed in hippocampal and neocortical neurons and is translated into a protein that functions as an Nxf1 co-factor. // 2016, Mol. Biol. Cell, V.27, P.3903-3912.

## **SMALL SUPERNUMERARY MARKER CHROMOSOMES (SSMC); GENOTYPE-PHENOTYPE CORRELATION COMPLICATED BY A CHROMOTHRIPSIS LEADING TO DISCONTINUOUS STRUCTURE**

Liehr T. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Jena University Hospital, Institute of Human Genetics, Germany, Jena, Am Klinikum 1*

*Thomas.Liehr@med.uni-jena.de*

Genotype-phenotype correlations in patients with small supernumerary marker chromosomes (sSMC) are still difficult to assess. The presently known influence of chromosomal imbalance induced by sSMC size and origin, mosaicism of sSMC and uniparental disomy of sSMC's sister chromosomes (UPD) on the clinical outcome is summarized here acc. to data on >5,600 sSMC cases presented on <http://ssmc-tl.com/Start.html>. In 1/3 of sSMC patients clinical symptoms are found. Besides the known sSMC related syndromes Pallister-Killian-, isochromosome-15q12~14-, isochromosome-18p-, isochromosome 9p-, cat-eye- and Emanuel-syndrome there are numerous other yet unnamed and unidentified "sSMC-syndromes". Recently, derivative-8- and derivative-13/21 syndromes in complex sSMC were reported. In conclusion, the influence of chromosomal imbalance induced by sSMC size and its origin seems to have the largest impact on the phenotype of sSMC-patients. Besides, UPD and mosaicism may be important for the clinical outcome. Also recently evidence was provided by us and others that sSMC with discontinuous structure due to chromothripsis related formation may be more frequently observed than initially suggested. New test systems based on next generation sequencing, array-methods as well as on new FISH-probe sets showed that their frequency might have been underestimated yet. Overall, more and more factors have to be considered to predict a possible influence of sSMC presence especially in prenatal cases during genetic counseling. Here the present knowledge on patients with sSMC is summarized.

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПРИРОДА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАДАТКОВ В СВЕТЕ РАЗНООБРАЗИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ

Тиходеев О.Н.

*Кафедра генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, 199034;*

*tikhodeyev@mail.ru*

Несмотря на то, что эпигенетическое наследование представляет собой широко распространенное явление, оно до сих пор не отражено в фундаментальных концепциях, традиционно базирующихся на генетической роли ДНК. Более того, основное внимание сосредоточено лишь на трех механизмах эпигенетического наследования (метилирование ДНК, модификация гистонов, амилоидная прионизация белков), в то время как их спектр намного разнообразнее. Он включает в себя: 1) регуляцию транскрипции посредством транскрипционных факторов, метилирования/деметилирования ДНК и модификации гистонов; 2) пост-транскрипционный сайленсинг за счет РНК-интерференции; 3) необратимую инактивацию трансляции в органеллах; 4) изменения первичной структуры белков; 5) пост-трансляционную химическую модификацию белков; 6) изменения третичной структуры белков; 7) взаимодействия белков на уровне четвертичной структуры; а также иные гипотетически возможные механизмы [1]. Судя по широте этого перечня, практически любой регуляторный механизм, не затрагивающий нуклеотидные последовательности или количество ДНК, но влияющий на действие генов или генных продуктов, способен при определенных условиях служить молекулярной основой эпигенетического наследования. При этом, как правило, отчетливо различимы стабильные аллельные варианты эпигенетических наследственных задатков. Вне зависимости от их конкретной молекулярной природы, все они имеют принципиально важное сходство [1-2]. Каждая эпигенетическая аллель представляет собой бимодулярную структуру, свойства которой определяются, во-первых, конкретной эпигенетической меткой (эпигенетической детерминантой) на последовательности ДНК или ее продукте, а во-вторых, непосредственно самой последовательностью ДНК (ДНКовой детерминантой; в ее отсутствие эпигенетическая аллель не воспроизводится). Таким образом, стабильное аллельное эпигенетическое наследование не противоречит генетической роли ДНК, но предполагает участие дополнительных механизмов с практически неограниченным разнообразием. В результате открываются хорошие перспективы для разработки фундаментальных концепций, охватывающих как канонические, так и любые неканонические механизмы наследования.

[1]. Tikhodeyev O.N., The mechanisms of epigenetic inheritance: how diverse are they? // 2018, Biol. Rev. Camb. Philos. Soc., V.93, P.1987-2005.

[2]. Tikhodeyev O.N., Tarasov O.V., Bondarev S.A., Allelic variants of hereditary prions: The bimodularity principle. // 2017, Prion, V.11, P.4-24.

## THE [SWI<sup>+</sup>] PRION FORMATION AND *SWI1* DELETION EXHIBIT DIFFERENT AND HIGHLY SPECIFIC TRANSCRIPTOME-WIDE EFFECTS IN YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Malovichko Y. V.,<sup>1,2</sup> Antonets K. S.,<sup>1,2</sup> Maslova A.R.,<sup>1</sup> Andreeva E. A.,<sup>1</sup> Inge-Vechtomov S.G.,<sup>1</sup> Nizhnikov A. A.,<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg State University, 199034 Universitetskaya nab., 7/9, Russia

<sup>2</sup>Laboratory for Proteomics of Supra-Organismal Systems, All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, 196608 Podbelskogo sh., 3, Pushkin, St. Petersburg, Russia  
[271296251017a@gmail.com](mailto:271296251017a@gmail.com)

Prions are virulent agents of proteinaceous nature responsible for transmission of several hereditary traits in different eukaryotic species. Being associated with different pathological states such as spongiform encephalopathy in humans, prions are usually considered as pathological agents mimicking loss-of-function mutations in their functional manifestation. However, whether this inactivating pattern is universally shared by all known prions remains elusive. Herein we present a comparative study of budding yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) transcriptome impaired either by deletion of the *SWI1* gene or prion formation by respective protein named [SWI<sup>+</sup>]. The Swi1 protein is a part of evolutionary conservative SWI/SNF chromatin remodelling complex of assumably non-specific mode of action; therefore, alleviation of the Swi1 protein activity by prion formation is expected to lead to severe transcriptome-wide depletion of gene expression pattern. However, RNAseq analysis of isogenic yeast strains showed that the *SWI1* deletion leads to differential expression of 1978 genes, of which 1156 are downregulated comparing to control (the [swi<sup>-</sup>] strain where Swi1 is monomeric and functionally active), while presence of the [SWI<sup>+</sup>] prion upregulates 19 genes and downregulates only 140 genes. Subsequent GO and KEGG Pathway annotation shows that, in contrast to prion formation, deletion of *SWI1* impairs numerous cell activities. For instance, translational machinery in the *swi1Δ* strain suffers from downregulation at practically every stage such as RNA polymerase I and III transcription, ribosome nucleolar maturation and assembly and namely mRNA and unfolded protein binding; the same is true for carbon metabolism which is marked by downregulation of manifold of enzymes related to monosaccharide dissimilation and sharing either cytoplasmic or mitochondrial location. What is more, deletion of *SWI1* appears to upregulate gene expression in a seemingly random manner. However, the effect of prion is not that severe compared to consequences of deletion: it does not affect translation and shows definite enrichment patterns in both upregulated and downregulated gene sets, though some depleting effects on carbon metabolism are shared between these two states. These and other obtained data are strikingly consistent with the phenotypic manifestations caused by both, [SWI<sup>+</sup>] prion and *SWI1* deletion, such as depleted growth on media with galactose or glycerol as primary carbon source and nonsense suppression. Thus, we propose that [SWI<sup>+</sup>] prion formation partially retains the Swi1 functional activity as a part of SWI/SNF complex and phenotypically manifests itself as both a gain-of-function and a loss-of-function mutation.

**Acknowledgements.** This work was supported by Russian Foundation for Basic Research (RFBR), Grant 17-04-00816.

## МЕХАНИЗМЫ ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ РЕПРЕССИИ ПОВРЕЖДЕННЫХ ГЕНОВ РИБОСОМНОЙ РНК

Клёнов М. С., Фефелова Е. А., Михалева Е. А., Пирогов С. А., Гвоздев В. А.

*Институт Молекулярной генетики РАН, Россия, Москва, пл. Курчатова, 2;*

*klenov@img.ras.ru*

Регуляция транскрипции генов рибосомной РНК (рРНК) имеет решающее значение для контроля роста клеток и клеточной дифференцировки. Кластеры рДНК в клетках эукариот состоят из сотен tandemно повторенных копий. В пределах одного кластера может быть активна только часть копий, а транскрипция остальных – подавлена. Обычно в процесс транскрипции не включаются дефектные варианты рДНК с нарушенной нуклеотидной последовательностью. Однако механизмы, которые направляют репрессию отдельных копий рДНК, остаются неизвестными. Повторы рДНК у дрозофилы могут содержать инсерции ретротранспозонов R2. Эти мобильные элементы не имеют собственного промотора, и при транскрипции их последовательность входит в состав предшественника пре-рРНК, а затем может вырезаться в ходе процессинга. Как правило, гены рДНК с инсерциями R2 демонстрируют очень низкий уровень экспрессии - на несколько порядков ниже по сравнению с неповрежденными рДНК. В этой работе мы исследовали механизмы репрессии инсертированных генов рДНК у *Drosophila melanogaster*. Система репрессии R2-содержащих копий рДНК препятствует размножению этого элемента и предотвращают образование поврежденных молекул рРНК. Мы обнаружили, что в репрессии некоторых дефектных генов рДНК участвует белок Piwi и взаимодействующие с ним короткие piРНК (Piwi-interacting RNA), которые могут вызывать дестабилизацию aberrантной рРНК на пост-транскрипционном уровне. В то же время, мы выяснили, что главную роль в транскрипционной репрессии R2 может играть другая, неохарактеризованная пока система белков. Нам удалось выявить белок, связанный с этой системой - Underdeveloped (Udd), ранее описанный как компонент комплекса инициации транскрипции РНК-полимеразы I дрозофилы. Мы обнаружили, что мутации гена *udd* вызывают увеличение количества транскриптов рДНК, содержащей R2, примерно в 100 раз. Таким образом, в отсутствие Udd уровень экспрессии R2 приближается к уровню экспрессии неинсертированных копий рДНК. Мы предполагаем, что белок Udd может играть роль в установлении репрессии на промоторе генов рДНК, взаимодействуя с компонентами предполагаемого репрессорного комплекса.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-54-10009 КО\_а.

## ГОРЯЧАЯ ТОЧКА РАЗРЫВА ХРОМОСОМЫ У МУТАНТОВ *SCREWY* ИНФУЗОРИЙ *PARAMECIUM TETRAURELIA*

Некрасова И.В.<sup>1</sup>, Никиташина В.Д.<sup>1</sup>, Майер Э.<sup>2</sup>, Потехин А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. 7/9, 199034, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup> Institut of Biology, Ecole Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm, 75005 Paris, France  
[alexey.potekhin@spbu.ru](mailto:alexey.potekhin@spbu.ru)

Мутанты *screwu* клона 51 инфузории *Paramecium tetraurelia* имеют характерный фенотип: грушевидные клетки с заостренным передним концом, которые при плавании вращаются волчком. Исходно были описаны три несцепленные мутации, приводящие к этому фенотипу [1]. Затем клетки с фенотипом *screwu* неоднократно удавалось получить в независимых экспериментах. Гены, отвечающие за возникновение этого фенотипа, а также характер наследования фенотипа (менделевское или цитоплазматическое) оставались неизвестными. Менделевское наследование у парамеций характерно для мутаций в генеративном ядре, микронуклеусе, в то время как изменения, затрагивающие только соматическое ядро, макронуклеус, часто наследуются цитоплазматически. Мы исследовали шесть мутантов *screwu* (Spinning Top, scr1-1, scr1-8, scr1-1big, scr1-3 и scr1-4), полученных разными экспериментаторами при использовании разных мутагенов (нитрозогуанидин, облучение ультрафиолетом) и при случайном выщеплении в скрещиваниях. Мы показали, что все эти мутации являются микронуклеарными и наследуются по законам Менделя. С помощью обычной и микронуклеус-специфичной ПЦР было установлено, что у всех исследованных мутантных клонов в одном и том же локусе как в микронуклеусе, так и в макронуклеусе отсутствуют протяженные участки ДНК (от 17,5 т.п.н. до 30 т.п.н.), включающие в себя до 15 генов. Среди отсутствующих у всех исследованных мутантов генов мы выявили ответственный за фенотип *screwu* ген, названный *Spade*. Он кодирует богатый глутамином белок с неизвестными функциями, включающий в себя две последовательности, имеющие гомологию с доменами типа C2H2 «цинковых пальцев». Нокаут гена *Spade* в вегетативных клетках приводит к быстрому проявлению фенотипа *screwu*, и клеткам требуется 5-6 делений после остановки сайленсинга для того, чтобы вернуться к дикому морфотипу, что заставляет предполагать, что функция гена как-то связана со структурой кортекса инфузории. У четырех из шести проанализированных мутантов *screwu* обрыв хромосомы в макронуклеусе произошел в одном и том же сайте, всего же нами обнаружено три сайта обрыва хромосомы, приводящего к мутантному фенотипу. Это говорит о существовании потенциальной горячей точки разрыва данной хромосомы в микронуклеусе клона 51 *P. tetraurelia*.

[1]. Sonneborn T.M. *Paramecium aurelia*. In: Handbook of Genetics. Protists of Genetic Interest. 1974. P. 469-594.

Поддержано грантом РФФИ 16-04-01710а.

**Симпозиум XVII: Популяционная генетика /Symposium XVII: Population genetics****POSTGENOMIC TECHNOLOGIES IN PRACTICAL FORESTRY:  
DEVELOPMENT OF DNA MARKERS AND POPULATION GENETIC  
DATABASES FOR TIMBER ORIGIN IDENTIFICATION, GENETIC  
MONITORING, BREEDING AND OTHER APPLICATIONS**

Krutovsky K. V. <sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Population Genetics, Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Gubkina Str. 3, Moscow 119991, Russia; <sup>2</sup>Laboratory of Forest Genomics, Genome Research and Education Center, Institute of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University, 50a/2 Akademgorodok, Krasnoyarsk 660036, Russia; <sup>3</sup>Department of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Georg-August University of Göttingen, Büsgenweg 2, Göttingen 37077, Germany; <sup>4</sup>Department of Ecosystem Science and Management, Texas A&M University, College Station, TX 77843-2138, USA

The forest genetics, tree improvement and protection can greatly benefit from complete genome sequence data made recently available for several major conifer species. They allow to identify and annotate genes, other functional elements (sRNA, transcription factors, regulatory elements, etc.) and genetic networks that control adaptation and disease resistance. They can be used to develop highly informative genetic markers that can be applied in population genetic studies to create database of barcodes for individual populations to fight illegal timber harvest and trade. They are very much needed for development of genome-wide genetic markers for association studies for linking genetic variation (SNPs, alleles, haplotypes, and genotypes) with environmental factors, adaptive traits and phenotypes for better understanding genetic control of agronomically and economically important traits. They can be also used to develop genome-wide genetic markers for genomic-assisted selection to breed for better adapted, stress resistant and climate change resilient trees with desirable quality ecological and economic traits. Finally, whole genome sequences allow to integrate proteomics, transcriptomics and metabolomics and provide reference genomes for resequencing. One of most important practical applications of genetics and genomics in forestry, which will be presented in detail is development of highly polymorphic and informative molecular genetic markers for several very important boreal forest species in Eurasia, Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.), Siberian stone pine (*Pinus sibirica* Du Tour) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), based on the whole genome data obtained in the “Genomics of the Key Boreal Forest Conifer Species and Their Major Phytopathogens in the Russian Federation” project funded by the Government of the Russian Federation (grant no. 14.Y26.31.0004).

## НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА СРЕДИ ПОТОМКОВ ОБЛУЧЕННЫХ РОДИТЕЛЕЙ

Дуброва Ю.Е.<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Университет г. Лестер, Великобритания, Лестер, Department of Genetics and Genome Biology, University of Leicester, Leicester LE1 7RH, UK

yed2@le.ac.uk

Моя лаборатория занимается изучением феномена трансгенерационной нестабильности у потомков родителей, подвергавшихся воздействию мутагенов, которая проявляется в повышенной частоте возникновения мутаций у них. Ниже приведены основные результаты наших работ.

1. Частота возникновения мутаций в половых клетках необлученных потомков облученных самцов мышей существенно превышает таковую у потомков контрольных родителей. Феномен трансгенерационной нестабильности проявляется и среди потомков самцов, подвергавшихся воздействию химических мутагенов.

2. Анализ потомков облученных родителей показал, что у них наблюдается двукратное увеличение спонтанного уровня одно-, так и двунитевых разрывов ДНК. Иными словами, нестабильность генома, наблюдаемая среди потомков облученных родителей, связана с наличием в их клетках целого комплекса повреждений ДНК.

3. Полученные данные, свидетельствующие о дестабилизации генома потомков самцов мышей, подвергавшихся воздействию мутагенов, позволяют предполагать, что аналогичный феномен может существовать и у человека. В нашей работе на мышах была предпринята попытка промоделировать эффекты различных доз облучения на проявление нестабильности генома у потомков облученных самцов. Проведенный анализ показал, что высоко дозовое острое облучение самцов ( $\geq 0.5$  Гр) приводит к дестабилизации генома их потомков, тогда как острое облучение более низкими дозами, равно как хроническое облучение относительно высокой дозой в 1 Гр, не нарушает стабильность генома потомков. Поскольку у человека случаи высоко дозового облучения встречаются крайне редко, и хроническое низко-дозовое облучение является основным источником радиационной опасности для человека, то, согласно результатам нашего исследования, феномен радиационно-индуцированной трансгенерационной дестабилизации может являться крайне редким явлением. С другой стороны, упомянутые выше данные нашей работы, посвященной анализу трансгенерационных эффектов у потомков самцов мышей, подвергавшихся воздействию антираковых препаратов, позволяют предполагать, что трансгенерационная дестабилизация генома может быть выявлена у потомков родителей, проходивших курс лечения этими препаратами.

4. Полученные нами результаты можно объяснить лишь с позиций эпигенетики. Представляется вероятным, что в сперму самцов, подвергавшихся воздействию радиации или химических мутагенов, могут проникать короткие РНК (siRNA, miRNA, smRNA), синтезированные в соматических тканях. Перенос даже единичных молекул коротких РНК сперматозоидом в оплодотворенную яйцеклетку может привести к долгосрочным изменениям в экспрессии многих генов, что, в свою очередь, может привести к дестабилизации генома потомков. Дальнейшие исследования должны внести ясность в этот вопрос.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Cancer Research UK (C23612/A9483), The Commission of the European Communities (FP6-036465), Wellcome Trust (091106/Z/10/Z, 067880/Z/02/Z).

## THE ROLE OF THEORETICAL POPULATION GENETICS IN UNDERSTANDING SPECIES DIVERSIFICATION

Gavrilets S.

*Department of Ecology and Evolutionary Biology, Department of Mathematics, National Institute for Mathematical and Biological Synthesis, Center for the Dynamics of Social Complexity, University of Tennessee, Knoxville TN 37922 USA*

[gavrila@utk.edu](mailto:gavrila@utk.edu)

Theoretical population genetics has been very helpful in evolutionary research in general and in speciation research in particular. Mathematical models have been used to clarify the logic of different verbal arguments, identify crucial parameters and factors, explain complex interactions between multiple forces, guide analysis of data, provide testable hypotheses, point to gaps in knowledge, train biological intuition, and generate new knowledge.

Models have identified 15 patterns of evolutionary diversification.

- 1) Early burst effect: There is a early burst of diversification with a slowdown afterwards.
- 2) Overshooting effect: There is an early increase in species diversity followed by its decline.
- 3) Stages of radiation effect: A particular sequence of events is expected: adaptation to macrohabitat; evolution of microhabitat choice and adaptation to microhabitat; divergence with respect to “magic traits” (i.e., traits simultaneously controlling local adaptation and mating); and divergence with respect to other traits controlling survival and reproduction.
- 4) Area effect: Speciation is promoted by larger geographic areas.
- 5) Nonallopatric diversification effect: Speciation can occur in the presence of gene flow.
- 6) Selection gradient effect: Speciation is promoted by selection gradients of intermediate slopes.
- 7) Spatial dimensionality effect: Areas that can be viewed as one-dimensional (e.g. rivers or shores of lakes) promote more speciation than 2-dimensional areas (e.g. oceans and continental areas).
- 8) Least action effect: Speciation occurring after the initial burst usually involves a minimum genetic change.
- 9) The number of loci effect: Rapid and extensive diversification is most likely if the number of loci underlying the traits under selection is small.
- 10) Porous genome effect: Species can stably maintain their divergence in a large number of selected loci despite gene flow that decreases differentiation in neutral loci.
- 11) Short duration of speciation effect: Intermediate forms are present for relatively short time.
- 12) Disparity vs. diversity effect: Morphological disparity increases most rapidly early in the clade history at low levels of species diversity.
- 13) Genetic dimensionality effect: the opportunity for diversification increases with dimension of genotype space.
- 14) Phenotypic dimensionality effect: diversity increases with the dimension of phenotype space.
- 15) Hybridization effect: diversification can be greatly promoted by early hybridization.

## ЭКСКУРСИЯ ПО ГАЛЕРЕЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОРТРЕТОВ

Балановская Е.В.<sup>1,2</sup>, Балановский О.П.<sup>3,2,1</sup>

<sup>1</sup>Медико-генетический научный центр, Россия, Москва, 115478;

<sup>2</sup>Биобанк Северной Евразии, Россия, Москва, 115201

<sup>3</sup>Институт общей генетики РАН, Россия, Москва, 119991

[balanovska@mail.ru](mailto:balanovska@mail.ru)

Цель популяционной генетики человека – изучение генетического многообразия популяций в пространстве и времени – включает две неразрывные, как инь и янь, задачи: анализ и общего генетического разнообразия совокупности популяций, и своеобразия генофонда отдельной популяции. Развитие генетических технологий, прошедшее за сто лет путь от анализа нескольких групп крови до полногеномного секвенирования, позволило надежно описать генетическое разнообразие всех крупных географических и исторических регионов мира. Революция в анализе древней ДНК добавила к географическому измерению измерение времени. Главные события генетической истории основных эпох уже начерно восстановлены, и в самые ближайшие годы матрица пространственно-временной изменчивости генофонда мира будет в общих чертах заполнена.

Поэтому главным трендом становится анализ не крупных регионов, не основных эпох, не общих черт, а поворот внимания к изучению своеобразия отдельных популяций, микрокосм которых таит в себе ключи к решению многих глобальных проблем: галереи генетических портретов популяций позволят реконструировать более объемную картину генетического многообразия человечества.

Арсенал методов создания генетических портретов велик: таблицы частот, матрицы генетических расстояний, результаты многомерного статистического анализа, компоненты ADMIXTURE, доли общих гаплотипов, f3/f4 статистики и многие другие. Но объединить их в общий генетический портрет и сделать его наглядным (как и положено портрету) можно лишь с помощью геногеографических карт. Дополнением к генетическому портрету популяции служит портрет антропологический, основанный на индивидуальных антропологических фотографиях, но выявляющий обобщенный облик популяции. В докладе представлен широкий диапазон методов создания генетических и антропологических портретов.

Оценить своеобразие генофонда популяции нельзя вне фона массива популяций, связанных с ней в пространстве и времени. Поэтому не одинокие генетические портреты, а галереи генетических портретов народов России и сопредельных стран – аварцев, адыгейцев, азербайджанцев, бурят, ижорцев, коми, коряков, марийцев, манси, монголов, русских, таджиков, татар, удмуртов, ульчей, чувашей, чукчей - позволяют увидеть и оценить генетическое многообразие. Галереи включают и генетические портреты и субэтносов (казаков-некрасовцев, сибирских татар), и отдельных родов (башкир, тувинцев, казахов, нанайцев).

**Благодарности:** работа выполнена при поддержке Госзадания ФАНО России.

## НАУЧНОЕ НАСЛЕДИЕ Ю.П. АЛТУХОВА И СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ АДАПТИВНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

Политов Д.В.<sup>1</sup>, Салменкова Е.А.<sup>1</sup>, Крутовский К.В.<sup>1-4</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Москва 199991, ул. Губкина, 3; <sup>2</sup> Сибирский федеральный университет, Россия, Красноярск, <sup>3</sup> Гёттингенский университет Георга-Августа, Германия, Гёттинген, Büsingenweg 5, 37077 Göttingen; <sup>4</sup> Техасский A&M Университет, США, Колледж-Стейшен, Техас  
[dmitri\\_p@inbox.ru](mailto:dmitri_p@inbox.ru)

Академик Юрий Петрович Алтухов – основатель одной из ведущих школ отечественной популяционной генетики, лаборатории популяционной генетики ИОГен АН СССР (1972), директор ИОГен РАН (1992-2006). Генетические процессы в природных популяциях до начала 1960-х гг. были предметом либо теоретического изучения, либо анализа с помощью морфологических признаков, наследственная природа которых сложна и неочевидна. Ю. П. Алтухову принадлежит приоритет быть одним из первых, кто использовал методы иммуногенетики и электрофореза белков – первых массово используемых методов анализа генетического полиморфизма. Это позволило получать эмпирические количественные оценки параметров внутри- и межпопуляционной наследственной изменчивости, а также выявлять факторы формирования, поддержания и динамики генетической структуры природных популяций, включая мутационный процесс, миграции, инбридинг, генетический дрейф и естественный отбор. Новые методы позволили анализировать ассоциации индивидуальной аллозимной гетерозиготности с адаптивными признаками, явления гетерозиса и сверхдоминирования, и к настоящему времени накоплено много примеров, подтверждающих селективность части аллозимного полиморфизма. Ю.П. Алтухов и Ю.Г. Рычков сформулировали принцип системной организации популяций, которая обеспечивает их устойчивость во времени. Важным методом оценки адаптивности молекулярной изменчивости является корреляция её параметров с географическими координатами и экологическими параметрами. Немалую роль в понимании сложных взаимодействий генотипа и среды сыграли анализ неаллельных взаимодействий и неравновесия по сцеплению. Проблему анализа генетической дифференциации популяций и выявления молекулярных признаков с разной селективной нагруженностью Ю.П. Алтухов считал крайне важной. Разделение маркерных локусов на селективно нейтральные (со средними значениями  $F_{ST}$ ), находящиеся под действием балансирующего отбора (с низкими значениями  $F_{ST}$ ) и подверженные дизруптивному отбору (с высокими значениями  $F_{ST}$ ) как подход на современном этапе близок к выявлению локусов-аутлаеров. Фундаментальной концепцией Ю.П. Алтухова была идея эволюционно сложившегося оптимума генетической подразделённости как основы устойчивости популяционной системы. Нативная, исторически сложившаяся популяционная структура должна рассматриваться в качестве такого же объекта охраны генофондов, как и общий популяционный и видовой уровень генетического разнообразия. Сравнительный анализ подразделённости популяций по разным классам маркеров – важный метод оценки селективности маркёров, но лишь сейчас с массовым внедрением самых разных классов ДНК-маркеров стало возможным провести соответствующий анализ и обобщения. Роль генетического полиморфизма и мономорфизма в адаптации популяций и видообразовании проходит сейчас проверку практикой массового геномного скрининга на популяционном уровне.

Благодарности: Данная работа была выполнена при поддержке темы госзадания 0112-2019-0001.

## ГЕНОФОНД НАРОДОНАСЕЛЕНИЯ РОССИИ В КОНТЕКСТЕ ГЕНОФОНДА МИРА: АУТОСОМНЫЕ И Y-ХРОМОСОМНЫЕ ПРОЕКЦИИ

Балановский О.П.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Москва, 119991;

<sup>2</sup>Медико-генетический научный центр, Россия, Москва, 115478;

<sup>3</sup>Биобанк Северной Евразии, Россия, Москва, 115201

[balanovsky@inbox.ru](mailto:balanovsky@inbox.ru)

Генетическое разнообразие народонаселения России еще больше, чем можно предположить из размеров страны. Проведя анализ более двух тысяч образцов по более чем миллиону аутомомных SNP-маркеров, мы изучили паттерны изменчивости генофонда Северной Евразии в целом и охарактеризовали более ста отдельных этнических и региональных популяций.

Создана популяционно-генетическая база геномных данных, включающая как собственные, так и опубликованные генотипы широкогеномных панелей Illumina, Affimatrix Human Origin, Genochip для нескольких тысяч образцов как из России, так и всех континентов.

Среди полученных результатов – различия между популяциями леса и степи, своеобразие генофонда Дальнего Востока и обнаружение в нем трех резко различных генетических компонентов, реконструкция генетической истории народов Крыма, взаимосвязь генетических экспансий народонаселения Центральной Азии и эволюции языков алтайской лингвистической семьи, распутывание демографической истории Кавказа и другие.

Аутомомные портреты генофондов, основанные на широкогеномных данных, надежны и основательны, но изюминку и живое выражение этим портретам часто добавляет Y-хромосома. Анализ отцовской линии наследования выдергивает из ковра генофонда лишь одну нить, но зато расцветывает ее красками истории и географии, завоеваний и диаспор, гипотез, а порой и домыслов. Мы провели полное секвенирование нескольких сотен Y-хромосом, представляющих все основные гаплогруппы Северной Евразии (C, G1, G2, J1, J2, N, R1b, R1a, Q). Это позволило провести филогенетический анализ, выявить десятки новых ветвей на этих гаплогруппах и датировать эти ветви.

Следующий шаг – широкий популяционный скрининг выявленных субгаплогрупп – был бы невозможен без Биобанка Северной Евразии, включающего образцы ДНК от более тридцати тысяч представителей более трехсот популяций России и других стран. В результате объединения результатов филогенетического и геногеографического анализа предложены модели истории каждой гаплогруппы. Эти истории являются генетическими проекциями целого ряда демографических событий: экспансий бронзового века Причерноморья и средневековья Центральной Азии, распространения финно-угорских популяций и народов Западного Кавказа, демографической истории евреев и многих других.

**Благодарности:** В докладе обобщены результаты исследований, выполненных в рамках РФФИ 17-06-00472, РНФ 17-14-01345, Научно-технической программы Союзного государства «ДНК-идентификация» и целого ряда других проектов.

## ГЕНОФОНД ФИННО-УГОРСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ: ЛЕТОПИСЬ МИГРАЦИЙ ПОСЛЕДНИХ ПЯТИ ТЫСЯЧЕЛЕТИЙ

Агджоян А.Т.<sup>1,2</sup>, Лукьянова Е.Н.<sup>1</sup>, Кагазежева Ж.А.<sup>1,2</sup>, Романов А.Г.<sup>1,2</sup>, Балановский О.П.<sup>1</sup>, Балановская Е.В.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН), Россия, Москва, 119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д. 3;

<sup>2</sup>Медико-генетический научный центр (ФГБНУ «МГНЦ»), Россия, Москва, 115478, ул. Москворечье, д. 1;

<sup>3</sup>Биобанк Северной Евразии, Россия, Москва, 115215, ул. Котляковская, д. 3, стр. 12, офис 4 [aagdzhoyan@gmail.com](mailto:aagdzhoyan@gmail.com)

Северную полосу Евразии от Финляндии и до Западной Сибири населяют народы финно-угорской языковой общности: не самой многочисленной, но одной из самых интригующих своим происхождением. Именно к финно-угорскому миру принадлежит большинство популяций, антропологическое своеобразие которых в XX в. дало начало дискуссиям об «уральской расе» - третьем антропологическом типе в населении Евразии, сочетающем черты как европеоидных, так и монголоидных групп. До сих пор остается открытым и вопрос о генетической основе и времени миграции первых носителей финно-угорских языков в Европу: даже результаты глубокого анализа филогеографии Y-хромосомы не выявили связи с лингвистическим фактором в распространении ветвей гаплогруппы N3. Тем не менее, именно возможности современной популяционной генетики имеют приоритет в изучении древних миграций и их датировании – как по следам в генофонде современных популяций, так и при прямом сравнении с древней ДНК. Наиболее информативным подходом представляется комплексный анализ данных по нескольким системам генетических маркеров.

Генетическая история финно-угорских народов изучена нами на основе широкогеномных панелей, Y-хромосомы и мтДНК в контексте Северной Евразии для современного (с использованием баз данных «Y-base», «MURKA», «GWbase») и древнего населения методами многомерной статистики, филогеографии, картографии и биоинформатики.

В сравнительно небольшом ареале финно-угров выявлено значительное генетическое разнообразие популяций: по данным и аутосомного генофонда, и маркерам Y-хромосомы выделяются кластеры Северной Европы, Урала и Западной Сибири, к каждому из которых тяготеют популяции иноязычных соседей. Основные различия кластеров связаны со вкладом в генофонд двух контрастных генетических компонентов: первый преобладает на севере Европы (предположительно восходит к древней популяции охотников-собирателей Восточной Европы); второй наиболее выражен у современного народонаселения Западной Сибири. На то, что распространение носителей второго компонента на запад могло происходить уже в железном веке, указывает генофонд древней популяции Кольского полуострова (Большой Олений остров), не оставившей значительного следа в современном генофонде Северной Европы.

**Благодарности:** Данная работа выполнена в рамках темы Государственного задания ФАНО России.

## ЕНИСЕЙСКИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СУБСТРАТ В ГЕНОФОНДЕ КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОЙ И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Харьков В.Н., Новикова Л.М., Хитринская И.Ю., Степанов В.А.

*«Научно-исследовательский институт медицинской генетики», федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Российская Федерация, Томск, 634050, ул. Набережная реки Ушайки, д.10*

*vladimir.kharkov@medgenetics.ru*

Развитие новых технологий масштабного генотипирования и технологий биоинформационного анализа, за последние несколько лет позволили перейти на принципиально новый уровень изучения генетической структуры популяций человека. Большинство этносов Южной и Западной Сибири являются своеобразным паззлом из различных предковых компонентов, которые различаются по времени появления, направлениям миграций их носителей, их антропологической и языковой принадлежности. Одним из наиболее древних компонентов в генофонде коренного населения этого региона является енисейский (по названию Енисейской языковой семьи, которая в настоящее время представлена единственным языком - кетским).

Мы использовали данные генотипов по 1677114 аутосомным SNP (биочип Illumina Multi-Ethnic Global-8) 917 образцов и данные генотипирования более 3000 Y-хромосомных SNP и 36 YSTR у более 1600 образцов мужчин, представляющих коренное население Сибири и соседних регионов. Охарактеризовано более 30 популяционных выборок. Для выявления компонентов и количества примесей у отдельных индивидов и популяций была использована методика NGS-admix и программа ADMIXTURE, а также проведен сравнительный анализ данных аутосомных SNP и гаплогрупп и гаплотипов Y-хромосомы.

При анализе данных аутосомных генотипов в качестве группы сравнения с наибольшей долей енисейского компонента была использована выборка кетов. Показано, что, несмотря на имеющуюся недавнюю европеоидную примесь, кеты характеризуются доминированием собственного генетического компонента (енисейского), который и является их генетической основой. Существенную долю этот компонент занимает также в генофонде селькупов (до 40%), хантов, тувинцев (до 15%), манси и нганасан. С меньшей частотой он представлен практически во всех популяционных выборках Алтая-Саян - кумандинцев, челканцев, тубаларов, алтай-кижи, сагайцев, качинцев, шорцев, тоджинцев.

Частота распределения енисейского компонента достоверно коррелирует с частотой гаплогрупп Q1b1a3b1a2-B33 и Q1b1a3b4-B31. Филогенетический анализ Y-хромосомных сублиний и гаплотипов показывает, что центром происхождения и расселения носителей енисейского компонента в Южной и Западной Сибири является территория современной Тувы. Полученные результаты хорошо согласуются с данными этнологии, антропологии и лингвистики о вкладе енисейского компонента в формирование различных народов Алтая-Саян и историческими ареалами енисейских языков.

## THE GenomeAsia100K PILOT COMPLETE: GENETIC DIVERSITY ACROSS ASIA

Gusareva E.S.<sup>1</sup>, Kim H.L.<sup>1,2</sup>, Schuster S.C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Singapore Centre for Environmental Life Sciences Engineering (SCELSE), Nanyang Technological University, 60 Nanyang Dr, 637551 Singapore;* <sup>2</sup> *Asian School of the Environment, Nanyang Technological University, 62 Nanyang Dr, 637459 Singapore*  
[egusareva@ntu.edu.sg](mailto:egusareva@ntu.edu.sg)

Asian populations represent 40% of mankind. Nevertheless, large-scale and in-depth characterization of Asian genome variation has not yet been attempted, despite its large diversity across the continent. The unique genetic diversity prevalent in South, North and East Asia can potentially provide a valuable source of clinical insights that should enhance our understanding of several rare and inherited diseases, as well as complex diseases such as cancer, diabetes, etc. We describe here the pilot stage of the GenomeAsia100K project to characterize genetic variation across Asian populations. Genomes of 1,739 individuals, including 1,236 newly sequenced, representing 64 countries and more than 200 ethnic groups were analysed. We identified 63 million SNPs, 29 million of which have not been previously described, and nearly 4 million indels. Analysis revealed correlates of extinct hominid admixture with present day social structure in South Asia. For instance, both India and Malaysia seem to contain multiple ancestral populations as well as multiple admixed groups, suggesting a complicated population history. The MSMC cross-coalescence rates and allele sharing analyses confirmed that the anthropologically classified “Negrito” groups from India, Malaysia and the Philippines (which share a set of superficial physical traits), are genetically more closely related to their neighbours than they are to other Negrito groups. These results are consistent with the idea that similarity of appearance in Negrito groups are the result of selection for physical traits, such as skin colour, occurring after their exit from Africa. Particularly, Philippine (Aeta) and Malaysian (Kintak and Kensiu) Negrito populations are the most distinctive among the major Southeast Asian populations. Most populations except for the Negrito groups are closely related or admixed with Austronesians. The Ati are a Philippine Negrito group, however, genetically they are closer to the Austronesian populations than Aeta. The genetic diversity of North and Northeast Asia found to be also high giving us valuable clues as to the population affinities and the timings of major migrations within Asia. The current major populations in Northeast Asia, Japanese, Korean, and Han Chinese, are closely related, and Mongolian groups show larger diversity than these major populations. The GenomeAsia100K data set will be used as a reference panel to facilitate imputation of Asian variants and increase the power of genetic association studies.

## UNRECOMBINED CHROMOSOMAL TRACTS IDENTICAL-BY-DESCENT PROVIDE INSIGHT INTO RECENT POPULATION HISTORY

Yunusbayev B.B.<sup>1</sup>, Yunusbaev U.B.<sup>2</sup>, Tambets K.<sup>1</sup>, Valiev R.R.<sup>3</sup>, Villems R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Genomics, Estonia, Tartu, Riia 23b*; <sup>2</sup>*Ufa Federal Research Centre, Russia, Ufa, Prospekt Oktyabrya 71*; <sup>3</sup>*Bashkir State University, Russia, Ufa, Zaki Validi 32*

[yunusbb@inbox.ru](mailto:yunusbb@inbox.ru)

Comparison between modern and ancient human DNA is now revolutionising our understanding of human population history. However, it remains unclear whether the bulk of studied ancient specimens directly contribute to our contemporary genetic makeup [1]. In this work, we take an alternative approach to learning about the genetic makeup of our extinct ancestors. We do it by focusing on unrecombined IBD tracts between contemporary individuals. We first identified signals of haplotype sharing between distant populations sampled across the Middle East, Eastern Europe, Central Asia and Siberia [2]. We then reconstructed the genetic structure of their ancestors by focusing on chromosomal tracts that two living individuals inherit from their common ancestor without recombination, i.e. identical-by-descent. We inferred genetic makeup of common ancestors that left excess IBD sharing between Siberian populations and populations scattered across Eastern Europe, Central Asia and the Middle East. By summarizing local ancestry calls for each SNP within the IBD tracts, we infer at least two episodes of gene flow from two distinct sources in Siberia. While one of them is broadly consistent with the westward expansion of nomadic peoples across the Eurasian steppe belt, another one is confined to the forest zone of northern Eurasia.

[1]. Schraiber J.G., Assessing the Relationship of Ancient and Modern Populations. // 2018, *Genetics*, V.208, P. 383-398.

[2] Pagani et al., Genomic analyses inform on migration events during the peopling of Eurasia // 2016, *Nature*, V.538, P. 238-242.

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСНОВ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ РАССТРОЙСТВ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Литвинов С.С.<sup>1,2</sup>, Валинуров Р.Г.<sup>3</sup>, Карунас А.С.<sup>1,4</sup>, Еникеева Р.Ф.<sup>1,4</sup>, Казанцева А.В.<sup>1</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>ИБГ УФИЦ РАН, Россия, Уфа, 450054, Проспект Октября, д. 71, лит. 1Е; <sup>2</sup>ГБУЗ РМГЦ, Россия, Уфа, 450076, ул. Гафури, д. 74; <sup>3</sup>Республиканская психиатрическая больница № 1 Министерства Здравоохранения Республики Башкортостан, Россия, Уфа, 450069, ул. Прудная, д.15, корпус 1; <sup>4</sup>Башкирский государственный университет, Россия, Уфа, 450076, ул. Заки Валиди, 32

[seregtg@gmail.com](mailto:seregtg@gmail.com)

Аутизм является социально значимым неврологическим расстройством у детей, связанным с нарушениями в трёх ключевых областях: социальном взаимодействии, речи и диапазоне интересов. Расстройства аутистического спектра (РАС) относятся к расстройствам, существенно обусловленным именно генетической составляющей, о чём свидетельствуют, в частности, исследования семей и близнецов. В настоящее время известно множество генетических изменений, в том числе хромосомные перестройки, CNV и SNVs, а также сотни генов-кандидатов, предположительно вовлечённых в патогенез РАС, что осложняет анализ их биологической основы. В России изучение генетических основ предрасположенности к РАС проводится несколькими группами исследователей, однако в Республике Башкортостан ранее оно не осуществлялось.

У 70 индивидов из Республики Башкортостан с установленным диагнозом «аутизм» был проведен забор крови с последующим выделением ДНК и анализом изменчивости числа копий методом MLPA. В результате у двух больных была обнаружена микроделеция в 6 экзоне гена субъединицы бета-3 рецептора гамма-аминобутировой кислоты (GABRB3), связанного с психомоторным развитием, активно экспрессирующегося в лимбической системе и ранее продемонстрировавшего связь с аутизмом, детской эпилепсией, когнитивными расстройствами, шизофренией, эпилептической энцефалопатией, синдромом Драве. Также у одного индивида была обнаружена микроделеция в гене Мус-ассоциированного белка цинковых пальцев (MAZ). Этот ген не был активно изучен в связи с аутизмом и не обнаруживается в базе данных генов Инициативной группы по исследованиям аутизма Фонда Симонса (SFARI). При этом была предположена связь гена MAZ с шизофренией, а также возможность его участия в регуляции развития нейронов через Ago2-ассоциированные РНК-индуцируемые комплексы выключения гена (miRISC, miRNA-induced silencing complex). Также была выявлена одна микродупликация в 4 экзоне гена альфа-7 субъединицы ацетилхолинового рецептора (CHRNA7), находящегося на длинном плече 15 хромосомы. Ранее было показано, что микродупликации в этом гене связаны с задержками развития, расстройствами аутистического спектра (РАС), синдромом дефицита внимания и гиперактивности, депрессивными и тревожными расстройствами.  $\alpha 7$  никотиновый ацетилхолиновый рецептор активно экспрессируется в кортикальных нейронах и нейронах гиппокампа, то есть в регионах, играющих ключевую роль в формировании памяти.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-44-020908 р\_а.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВЕДЕНИЯ ДОМЕСТИЦИРОВАННЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Столповский Ю.А.<sup>1</sup>, Лазебная И.В., Оюн Н.Ю., Коноров Е.А., Артюшин И.В.,  
Каштанов С.Н., Свищева Г.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова, Россия, Москва, ул. Губкина, 3;

<sup>2</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева,  
10.

[stolpovsky@mail.ru](mailto:stolpovsky@mail.ru)

В настоящей работе исследованы микросателлитные локусы, гаплотипическое разнообразие мт ДНК и изменчивость генов-кандидатов, ассоциированных с признаками продуктивности у неисследованных ранее пород КРС турано-монгольского корня. Выполнен комплексный молекулярно-генетический анализ 16 европейских и азиатских пород крупного рогатого скота (530 животных) с использованием стандартной панели из 14 микросателлитов. Всего обнаружено 274 аллелей, из которых 33 аллеля - «приватные». Статистический анализ микросателлитных генотипов позволил выявить микросателлиты, которые содержат аллели, специфичные для пород европейского и азиатского происхождения. Впервые определен «выборочный географический центр происхождения» изучаемых пород и построены зависимости ожидаемой гетерозиготности и коэффициента инбридинга от расстояния между локализацией выборки и этим географическим центром.

Впервые проведено сравнительное исследование алтайского скота (Россия) и бурятского скота (России, Монголии и Китая) на основе генов-кандидатов PRL, GH, GHR и CSN3, регулирующих многочисленные функции организма, наиболее известными из которых являются процессы роста, развития, лактогенеза, обмен протеинов. Во всех исследованных выборках (всего 110 особей) аллельное равновесие по гену bGH значительно смещено в сторону L-аллеля, по гену PRL – в сторону A-аллеля, а по гену GHR – в сторону A-аллеля только у алтайского скота. В российской выборке бурятского скота обнаружена высокая доля В-аллеля гена CSN3, ассоциированного с технологической пригодностью к сыроварению, высокая доля L-аллеля гена bGH-AluI и A-аллеля гена PRL-RsaI, связанных с параметрами молочной продуктивности, а также G-аллеля гена GHR, чья связь установлена с мясными признаками у других пород КРС.

На основе анализа полиморфизма гипервариабельной области D-петли мт-ДНК исследовано генетическое разнообразие домашнего яка Саяно-Алтайского региона России и Монголии, с описанием новых гаплотипов A4, A13, D9 и E3. При анализе вклада материнской генетической компоненты в формирование внутри- и межпородного разнообразия мт-ДНК одомашненных и диких яков Цинхай-Тибетского нагорья обнаружено два крупных клада. При этом не выявлено принадлежности к конкретным гаплогруппам и кладам гаплотипов, найденных у диких яков, а также у пород и географических популяций домашнего яка.

Сравнительный анализ изменчивости ядерной и митохондриальной ДНК фермерской и природных популяций соболя позволил оценить потери генетического разнообразия при адаптации вида к новым условиям существования. После 85 лет разведения в условиях жесткого направленного отбора сохранилась только 49,7% исходного аллельного разнообразия природных популяций соболя.

Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-54-44060 и РНФ № 19-76-20061

## КЛОНАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ЕГО ПРОИСХОЖДЕНИЕ У ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ВИДОВ ЯЩЕРИЦ РОДА *DAREVSKIA*

Рысков А.П.

Институт биологии гена РАН, Россия, Москва, ул. Вавилова, д. 34/5

[ryskov@mail.ru](mailto:ryskov@mail.ru)

Открытие партеногенеза у позвоночных, сделанное И.С. Даревским в 1958 г., поставило ряд фундаментальных вопросов о происхождении, эволюционной стабильности и механизмах воспроизводства таких видов, а также о формировании и эволюции у них генетического разнообразия. Рептилии и, прежде всего, ящерицы являются единственными позвоночными, у которых описан облигатный партеногенез. В абсолютном большинстве случаев возникновение партеновидов связано с межвидовой гибридизацией между генетически близкими видами. Партеновиды рода *Darevskia* представляют особый интерес, поскольку партеногенез, по-видимому, возникал несколько раз в этой группе. Целью нашего исследования является определение генетического и клонального разнообразия, а также механизмов формирования этого разнообразия у партеновидов *Darevskia dahli*, *D. armeniaca*, *D. rostombekowi* и *D. unisexualis*. Ранее низкий уровень генетической изменчивости был показан у этих видов при использовании аллозимных, митохондриальной ДНК и мультилокусных ДНК-фингерпринтных маркеров. Разработанный нами недавно вариант микросателлитного генотипирования партеновидов показал, что аллельные вариации микросателлитных локусов связаны с полиморфизмом микросателлитов и однонуклеотидным полиморфизмом участков аллелей вне микросателлита. Их сочетание образует аллель-специфические маркеры (гаплотипы), наследуемые партеновидом от двуполох родительских видов. Комбинация аллельных маркеров каждого локуса дает генотип-специфические маркеры, а особи с одинаковыми генотипическими маркерами составляют отдельные клональные линии. Этот подход дал более высокие оценки клонального разнообразия у исследованных партеновидов; выявил мультиклональную генетическую структуру у *D. rostombekowi* и отвергнул общепринятую гипотезу о его моноклональности; детектировал клоны гибридного происхождения вследствие единичного (*D. unisexualis* и *D. rostombekowi*) и множественных (*D. dahli*, *D. armeniaca*) актов гибридизации, а также клоны постмутационного происхождения.

**Благодарности:** Автор благодарен всем коллегам за их вклад в развитие данной тематики по геномике партеногенеза у позвоночных. Данная работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 17-00-00430 (17-00-00426), № 17-04-00396.

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИКИ ВИДООБРАЗОВАНИЯ

Стегний В.Н.

*Томский государственный университет, Россия, Томск, пр. Ленина 36,*

*stegniy@res.tsu.ru*

Рассмотрены вопросы перестройки архитектуры генома при видообразовании. Анализируется роль системных мутаций в эволюции. Автор систематизирует собственные феноменологические данные о пространственной перестройке хромосомного аппарата в ткани зародышевой линии (называемые системными мутациями) в ходе филогении видов двукрылых. Концепция системных мутаций и их решающей роли в солевом превращении геномов в эволюции видов получила дальнейшее развитие. Рассмотрены эпигенетические механизмы видообразования, а именно модификации гетерохроматина и изменения пространственной организации хромосом в герминативных клеточных системах. Обсуждается роль ламины, топоизомеразы II и полипуринового трека ДНК в прикреплении хромосом к ядерной оболочке. Перестройка пространственной организации хромосом в ядре постулируется как основное событие, приводящее к видоспецифической фиксации мутаций генов, хромосомных мутаций и модификаций гетерохроматина в видообразовании. Изменения во взаимоотношениях между хромосомами, связанные с перестройкой системы контактов хромосомы с ядерной оболочкой и перестройкой хромоцентрового аппарата в межфазном ядре, рассматриваются как системные мутации, непосредственно связанные с видообразованием. Обоснована эволюционная значимость жесткого инбридинга в экстремальных условиях окружающей среды (где температура является основным фактором) для формирования адаптивных генетических вариаций и видообразования. Основными проявлениями «парадоксального» эффекта жесткого инбридинга являются: (1) структурная функция реорганизации генома в генеративной (репродуктивной) системе; (2) активация мобильных генетических элементов. Это может привести к генерации различных типов мутаций (генных, хромосомных, геномных и системных) и модификаций гетерохроматина. Изучение генетических аспектов видообразования и адаптации выявило несколько генетических параметров, которые различают эволюционно лабильные виды (с низким уровнем специализации), которые являются «генераторами» видообразования, и эволюционно консервативные (специализированные) виды, обитающие в терминальных положениях филогенетических линий. При горизонтальном эволюционном развитии таксона (кладогенеза или адаптивной радиации) признаки, указывающие на низкую специализацию генома, постепенно заменяются на каждом этапе видообразования в ходе прогрессивной специализации альтернативными признаками (эволюционно сохраняющимися), достигая максимального проявления у терминального вида.

## ПРЕСНОВОДНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ ТРЕХИГЛОЙ КОЛЮШКИ *GASTEROSTEUS ACULEATUS* L КАК МОДЕЛЬ ВИДООБРАЗОВАНИЯ.

Мюге Н.С.<sup>1,2</sup>, Тереханова Н.В.<sup>3</sup>, Барминцева А.Е.<sup>2</sup>, Мюге Л.Н.<sup>1,2</sup>, Булахов А.Г.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Лаб. эволюции генома и механизмов видообразования ИБР РАН, Москва, Вавилова 26; <sup>2</sup> Лаборатория молекулярной генетики ФГБНУ «ВНИРО», Москва, В. Красносельская 17; <sup>3</sup> Сколтех, Москва, Большой бульвар д.30, стр.1; <sup>4</sup> МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы 1.

[migue@mail.ru](mailto:migue@mail.ru)

Трехиглая колюшка – модельный вид в эволюционной биологии, обитающая в море и образующая многочисленные экологические формы при заселении в пресные водоемы. В большинстве изученных популяций исследователи имеют дело с хорошо сформированными формами колюшки, имеющие возраст в несколько тысяч поколений.

Белое море представляет уникальный полигон для изучения ранних стадий формообразования у колюшки. Постоянный подъем береговой линии со скоростью около 0.5 см в год приводит к происходящей у нас на глазах постепенной изоляции морских заливов и превращения их в пресноводные местообитания. Изучая пресноводные (жилые) популяции колюшки, можно наблюдать весь временной ряд (от десятков до тысяч лет) формирования популяционных адаптации к новым условиям. На ранних этапах новые озера соединяются с морем протокой, что позволяет анадромной колюшке попадать в озеро на время нереста и приводит к симпатрическому нересту двух форм. Проведенное полногеномное секвенирование колюшки из 13 озер карельского берега Белого моря и предковой морской популяции позволило выявить участки генома, находящиеся под отбором при формировании жилых популяций и оценить количественно интенсивность отбора. Использование анализа плотности маркерных замен в большинстве случаев позволяет локализовать в геномных островках дивергенции конкретные мутации, находящиеся под положительным отбором и играющие функциональную роль в системе адаптаций к новым условиям среды. Среди генов, находящихся под отбором, наиболее представлены гены иммунного ответа, метаболизма, а также различные транскрипционные факторы.

Исследование аллельного репертуара генов МНС первого и второго классов показало высокую специфичность доминирующих аллелей в каждом озере и значительный сдвиг аллельного состава в сравнении с предковой морской популяцией. Наиболее контрастно эта закономерность проявляется у МНС2, для которого ранее была показана роль в формировании ассортативности при выборе полового партнера. Предварительные данные позволяют утверждать, что частичная репродуктивная изоляция возникает на самых ранних этапах формирования жилой формы и позволяет ускорить процесс адаптации за счет резкого снижения потока генов между анадромной (морской) и жилой (пресноводной) популяциями. Формообразование у колюшки можно считать удобной для изучения моделью видообразования, так как новые жилые популяции колюшки удовлетворяют критериям как в биологической, так и в экологической и морфологической концепций вида. Дальнейшие исследования направлены в первую очередь на выявление генетической основы ассортативного скрещивания, а также выявления функционального значения наблюдаемых эволюционных изменений в геноме колюшки.

## РЕПРОДУКТИВНЫЕ СИМБИОНТЫ-ПРОКАРИОТЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ НАСЕКОМЫХ – МНОГООБРАЗИЕ СИМБИОНТНЫХ СИСТЕМ, МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПАРТНЕРОВ И ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИИ НА АДАПТАЦИЮ ХОЗЯИНА

Горячева И.И.

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Москва, 1193330 Москва, ул. Губкина, 3

[iigoryacheva@mail.ru](mailto:iigoryacheva@mail.ru)

Симбиотические цитоплазматические прокариоты способны детерминировать aberrации процесса размножения насекомых. При невысоком видовом разнообразии эти бактерии представляют сразу несколько крупных таксономических групп – Tenericutes, Proteobacteria и Bacteroidetes. Доля зараженных видов насекомых составляет около 47% от общего числа видов. Заражение приводит к подразделению единой популяции на две субпопуляции, что обеспечивает пластичность вида в меняющихся условиях окружающей среды и увеличивает его адаптационный потенциал. Различные виды бактерий реализуют различные цитогенетические и молекулярно-генетические механизмы при индукции репродуктивных aberrаций, в том числе меняют направление развитие пола зараженного хозяина за счет изменения типа экспрессии ключевых генов развития пола. Экспрессивность бактериальных эффектов в значительной доле исследованных симбиотических систем является плотностнозависимой, а бактериальная плотность зависит от особенностей структуры бактериального генома; к ослаблению эффектов приводят также мутации в его функционально активных участках. На популяционном уровне инфекция приводит к изменению половой структуры в инфицированных популяциях иногда до экстремальных значений в соотношении полов, частичной репродуктивной изоляции субпопуляций и к дифференциации интенсивности и объема генных потоков между субпопуляциями. Помимо влияния на тип репродукции, симбионты способны изменять ряд других репродуктивных и биологических характеристик инфицированных насекомых: повышать плодовитость инфицированных самок и выживаемость преимагинальных стадий хозяина, повышать его устойчивость к патогенам от вирусов до паразитических простейших, паразитических нематод и ос, повышать температурную толерантность, изменять вкусовую чувствительность, влиять на ассортативность спариваний, продолжительность жизни и старение. Исследуются молекулярно-генетические механизмы взаимодействия партнеров. Совокупность эффектов бактерионосительства обеспечивает стабильное сохранение симбиотических бактерий в популяциях насекомых и способствует расширению экологической амплитуды вида хозяина. Эффекты бактерионосительства оказываются критически важными и обеспечивают выживание вида в экстремальных для него условиях существования. Современным трендом является использование симбиотических прокариот для контроля численности популяций насекомых-вредителей и эпидемиологически опасных видов насекомых.

## ГЕОГРАФИЧЕСКИЕ ТРЕНДЫ В РАСПРОСТРАНЕНИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА И ИММУННОГО ОТВЕТА В ПОПУЛЯЦИЯХ КОРЕННЫХ НАРОДОВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Лавряшина М.Б.<sup>1</sup>, Ульянова М.В.<sup>2</sup>, Имекина Д.О.<sup>2</sup>, Остроухова И.О.<sup>2</sup>, Козлов А.И.<sup>3</sup>,  
Тычинских З.А.<sup>4</sup>, Падюкова А.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Кемеровский государственный медицинский университет, Россия, Кемерово,  
ул. Ворошилова, 24А;

<sup>2</sup> Кемеровский государственный университет, Россия, Кемерово, ул. Красная, 6;

<sup>3</sup> Научно-исследовательский институт и музей Антропологии МГУ имени М. В. Ломоносова,  
Россия, Москва, ул. Моховая, 11, строение 1;

<sup>4</sup> Тобольская комплексная научная станция УрО РАН, Россия, Тобольск, ул. Академика  
Осипова, 15.

[LMB2001@mail.ru](mailto:LMB2001@mail.ru)

В экспедициях (2004-2018 гг.) в регионы Западной Сибири собраны биологические образцы и информационные материалы для исследования генофондов коренных народов данных территорий. Обсуждается фрагмент исследований, включающий изучение популяционных частот и эколого-географических трендов в распространении генов метаболизма этанола (*ADH1B* rs1229984, *ALDH2* rs671, *CYP2E1* rs3813867), белкового, липидного, углеводного обмена (*LCT* rs4988235, *ApoE* ε4 rs769452, *AMY2A* rs104650, *TREN* rs2276064, *SI* rs781470490), витамина D (*VDR* rs2228570, *VDR* rs1544410), а также генов хемокиновых рецепторов, влияющих на эффективность работы иммунной системы (*CCR2* rs1799864, *CCR5* rs333). Суммарный объем выборки обследованных коренных народов составил 1692 человека, из них 1145 человек – коренное население юга Западной Сибири (11 народов Алтае-Саянского нагорья) и 547 человек – представители народов центральной и северной части Западно-Сибирской равнины (7 этнотерриториальных групп тоболо-иртышских сибирских татар и 2 этнотерриториальные группы хантов).

Коренное население Западной Сибири представлено народами, чье развитие до недавнего времени происходило в условиях относительной изоляции под влиянием комплекса природно-климатических и этно-социальных факторов. В исторической ретроспективе несомненный вклад в формирование генетической структуры сибирских популяций вносили особенности образа жизни, включая практикуемые системы жизнеобеспечения, фактор питания, эпидемиологическую обстановку в местах компактного расселения.

Результаты исследования подтверждают высокую генетическую гетерогенность коренных народов Западной Сибири. Выявлены «пики» аллельных частот *CCR5* rs333 у горно-таежных шорцев (*CCR5* del32 = 0.184), *CCR2* rs1799864 у хакасов-сагайцев (*CCR2* 64I = 0.593) и ряд других. Межпопуляционная подразделенность ( $G_{ST}$ ) варьировала в зависимости от комплекса генов и принципов группировки выборок. По генам биотрансформации этанола  $G_{ST}$  составила 3,22, а генам белкового, липидного и углеводного обмена оказалась в 3 раза выше –  $G_{ST} = 9,21$ . Полученные значения генетических расстояний ( $d$ ) между исследованными народами, в целом, соответствуют территориальным дистанциям. В отношении частот аллелей изученного комплекса генов прослеживаются четкие географические тренды с юго-востока на северо-запад ареала расселения исследованных коренных народов Западной Сибири.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ проекты № 18-013-00942 и 18-09-00487

## ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОРОД КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА *BOS TAURUS* ЕВРОПЕЙСКОГО И АЗИАТСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА ОСНОВЕ SNP РЯДА ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ

Лазебная И.В.<sup>1</sup>, Перчун А.В.<sup>2</sup>, Лазебный О.Е.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, г. Москва, 119991, ГСП-1, ул. Губкина, 3,

<sup>2</sup>Федеральный центр охраны здоровья животных, Россия, г. Владимир, 600901, мкр. Юрьевец, ул. Институтский Городок, 33.

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, Россия Москва, 119334, ул. Вавилова, 26.

[Lazebnaya@mail.ru](mailto:Lazebnaya@mail.ru)

Проведен сравнительный анализ изменчивости ряда аборигенных российских и зарубежных пород крупного рогатого скота, а также пород мировой селекции из Европы и Азии на основе собственных данных и известных из научных источников о полиморфизме следующих генов-кандидатов селекционно-ценных признаков: *GH* (AC\_000176.1: хромосома 19, экзон 5, rs41923484, g.2141C>G, L127V), *GHR* (AC\_000177.1: хромосома 20, экзон 10, rs109300983, g.257A>G, S555G), *PRL* (AC\_000180.1: хромосома 23, экзон 3, g.35108342A>G), *CSN3* (экзон 4, A/B аллели). Спектр исследуемых пород варьирует в зависимости от маркера от 15 до 27. Общая численность животных рассматриваемых пород для разных SNP-маркеров составляет 2-6,5 тысяч. В азиатскую группу пород, наряду с зарубежными, вошли разводимые в России якутская, бурятская, калмыцкая, казахская и алтайская породы [1], в европейскую – костромская, ярославская, айрширская, бурая швицкая и др. [2].

Установлено, что уровень межрегиональной изменчивости пород европейского и азиатского происхождения, оцененный по значениям индекса разнообразия Шеннона (H') составляет для гена *GHR* 1%. При этом доля межпородной изменчивости – 5%. Значения индекса H' для SNP маркера гена *GH* следующие: 1% – межрегиональная, 8% – межпородная. Для генов *PRL* и *CSN3* в исследованном спектре пород межрегиональная изменчивость не обнаружена, а межпородная составляет 3% и 9%, соответственно.

Таким образом, на основе анализа обширных данных ни для одного из исследованных SNP не установлено значительных различий между двумя группами пород, имеющими европейское и азиатское происхождение. Возможно, проводимая селекция по признакам молочной и мясной продуктивности нивелировала у пород крупного рогатого скота, разводимых в настоящее время, различия, существовавшие у предков азиатских и европейских пород. Нельзя исключить и влияния фактора односторонности данных по породному разнообразию, учитывая меньшую изученность аборигенных пород. Полученные результаты могут послужить дополнительным стимулом для проведения глубокого исследования генетического разнообразия местных пород.

[1]. Lazebnaya I.V. *et al.* Analysis of GH1, GHR and PRL gene polymorphisms for estimation of the genetic diversity of Buryat and Altai cattle breeds. Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(6):734-741.

[2]. Lazebnaya I.V. *et al.* Use of the Bovine Prolactin Gene (bPRL) for Estimating Genetic Variation and Milk Production in Aboriginal Russian Breeds of *Bos taurus* L. In: Nagy G.M. (Ed.). Prolactin. InTech, 2013.

**Симпозиум XIX: Генетика поведения, старения и нейрогенетика /  
Symposium XIX: Genetics of Ageing, Behavior and Neurogenetics**

**КЛЮЧ К СЕЛЕКЦИИ СОБАК ПО ТИПАМ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ  
ДЕЯТЕЛЬНОСТИ И.П. ПАВЛОВА И ПО ПРИРУЧЕННОСТИ ЛИС Д.К.  
БЕЛЯЕВА: ГЕНОМНОЕ РАССТРОЙСТВО СИНДРОМ ВИЛЛЬЯМСА-  
БОЙЕРНА И ГИПЕРСОЦИАЛИЗАЦИЯ**

Савватеева-Попова Е.В., Журавлев А.В., Медведева А.В.

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург,  
199034, наб. Макарова,  
[esavvateeva@mail.ru](mailto:esavvateeva@mail.ru)

Наличие в геноме «горячих точек», районов с повторяющимися последовательностями ДНК, является фактором риска возникновения мультифакторных заболеваний. Свойства повторов предрасполагают к неаллельной гомологичной рекомбинацию (NAHR), ведущей к появлению вариаций числа копий генов (copy number variants, CNVs) и структурным вариантам генов (structural variants, SVs), в том числе малых, иногда менее 10 bp, инсерций и делеций (INDELs). Изменение 3D организации хроматина ядра из-за SVs влияет на экспрессию пограничных генов, находящихся дистальнее точек разрыва и воссоединения ДНК. К числу синдромов, вызванных SVs, относится Williams Beuren Syndromes (WBS). Его проявления: эльфоидная внешность, кардио-васкулярная патология, гиперсоциальность, когнитивный дефект зрительно-пространственного ориентирования. Последние три проявления – результат гемизиготности гена *limk1*, кодирующего LIM киназу 1 – ключевой фермент каскада ремоделирования актина. Транспозоны семейства *Tc1/mariner* часто встраиваются в горячие точки NAHR, где служат flip-flop триггером генерации «зеркальных фенотипов». В WBS районе около 25 генов (7q11.23 у человека), делеции вызывает гиперсоциализацию пациентов, дупликации же приводят к аутизму и шизофрении. Многолетнее изучение волков, шакалов, койотов и разных пород собак выявило, что только при селекции на одомашнивание или гиперсоциализацию (vonHoldt et al. 2017; 2018) наблюдается генерация SVs именно в WBS районе, а маркером гиперсоциализации/одомашнивания служит инсерция транспозона (TE) с LTR (long terminal repeats) семейств *Tc1/mariner* или *LINE*), изменяющая экспрессию 6-ти генов WBS (WBSCR17, LIMK1, GTF2I, WBSCR27, BAZ1B и BCL7B). Нами создана модель WBS на дрозофиле с мутационным повреждением гена *limk1* — *agnostic* (*agn<sup>ts3</sup>*). Мутант *agn<sup>ts3</sup>* несет A/T-богатую вставку 28 п.н. в интроне 1 гена *limk1* и инсерцию TE семейства *Tc1/mariner* на расстоянии 460 п.н. от 3'UTR *limk1* (Savvateeva-Popova et al. 2017). При условно-рефлекторном подавлении ухаживания мутант демонстрирует поведение, сходное с гиперсоциальным, что мешает процесс обучения и формирования памяти. В связи с этим эта модель пригодна для разработки методов ранней диагностики геномных заболеваний и «зеркальных нейропатологий», обусловленных, в том числе, наличием TE. Району локализации *agnostic* (X:11AB) присущи недорепликация, наличие палиндромов, повышенная частота рекомбинации, эктопическая конъюгация. Последняя отражает совместную локализацию в ядре контактирующих районов одной или разных хромосом. Район 11AB *agn<sup>ts3</sup>* в 3 раза чаще формирует такие контакты нежели дикий тип. Методом 4C-seq нам удалось выявить гены дрозофилы, формирующие пространственные контакты с *limk1*. Оказалось, что каждый ген, взаимодействующий с *limk1*, участвуют во многих биологических процессах, затронутых мутацией *agn<sup>ts3</sup>*. Множественные фенотипические проявления геномных синдромов, по-видимому, связаны не только с нарушением экспрессии отдельных затронутых перестройкой генов, но и с изменением функции всех генов, совместно локализованных в пространстве ядра. Наибольший интерес представляют

совместно локализованные с *limk1* гены, отвечающие за процессы клеточного деления, организацию хромосом, репарацию DSB. К таким генам, фенотипическое проявление которых удобно использовать для экспресс-диагностики, относятся *Dmel\CG5270* (86E5-86E5) - продукт гена вовлечен в репарацию DSB посредством гомологичной рекомбинации, принимает участие в цитокинезе; *Dmel\CG3339* (97F1-97F2) — тяжелая цепь динеина, участвует в захвате хромосом, контроле сборки митотического веретена деления и присоединении микротрубочек к кинетохору и др; *Dmel\Xpd* - *Xeroderma pigmentosum D* (57C7-57C7) - АТФ-зависимая ДНК хеликаза. *Xpd* входит в состав многофункционального комплекса TFIIH, сочетающего регуляцию транскрипции, клеточного цикла и веретена деления и расхождения хромосом в ана-телофазе, контроля DSB. Дальнейшая валидация модели возможна на агрессивных/одомашненных лисах ИЦиГ СО РАН: а существуют ли лисы-аутисты?

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РАЗВИТИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛЕЙ НА ДРОЗОФИЛЕ

Никитина Е.А.<sup>1,2</sup>, Медведева А.В.<sup>1</sup>, Журавлев А.В.<sup>1,2</sup>, Токмачева Е.В.<sup>1</sup>, Васильева С.А.<sup>1</sup>, Заломаева Е.С.<sup>1,2</sup>, Иванова П.Н.<sup>2</sup>, Захаров Г.А.<sup>1</sup>, Савватеева-Попова Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия, наб. Макарова, 6

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия, наб. р. Мойки, 48

21074@mail.ru

Одна из наиболее фундаментальных задач современной нейронауки - познание того, как мозг участвует в приобретении, хранении и воспроизведении различных форм памяти. Эволюционная консервативность функций генов, ответственных за реализацию механизмов памяти, означает, что знания, полученные при подробном изучении одного организма, будут способствовать пониманию таковых процессов и у других организмов. Выявленные у беспозвоночных гены, причастные к формированию памяти, отвечают за умственную отсталость у человека. К ним относятся гены, контролирующие этапы сигнальных каскадов, пересекающихся с цАМФ-зависимым каскадом, в частности, сигнальный каскад ремоделирования актина, ключевым ферментом которого является LIM-киназа 1 (LIMK1) [1]. Реорганизация актинового цитоскелета играет важнейшую роль в обеспечении пластичности нервной системы. К болезням цитоскелета – кофилинопатиям – относят и нейродегенеративные заболевания (НДЗ), поскольку образование кофилин-актиновых комплексов в нейронах свойственно для всех НДЗ. Для создания животной модели НДЗ требуется показать наличие триады диагностических признаков, каковыми являются: 1) дефекты памяти и обучения, проявляющиеся как прогрессивная потеря памяти; 2) локомоторные дефекты; 3) амилоидоподобные включения в нейронах. Такие возможности предоставляет хорошо изученный нейрогенетический объект – дрозофила. Исследование этиологии столь сложных полигенных синдромов должно происходить с учетом “эпигенетического форматирования” участвующих в этих процессах генов. Метилирование ДНК, ацетилирование гистонов и действие определенных микроРНК рассматриваются как факторы эпигенетических изменений. Роль микроРНК в эпигенетической регуляции памяти и обучения уже показана [2, 3]. Понимание генетических и эпигенетических факторов этиопатогенеза может способствовать поиску новых средств терапии прогрессирующих НДЗ.

[1]. Савватеева-Попова Е.В. и др., От нейрогенетики к нейроэпигенетике. // 2015, Генетика, Т.51, №5, С. 613–624.

[2]. Savvateeva-Popova E.V. et al., Pathogenic chaperone-like RNA induces congophilic aggregates and facilitates neurodegeneration in *Drosophila*. // 2007, Cell Stress & Chaperones, V.12, №1, P. 9–19.

[3]. Savvateeva-Popova E.V. et al., Non-coding RNA as a trigger of neuropathologic disorder phenotypes in transgenic *Drosophila*. // 2008, J. of Neuronal Transmission, V.115, №12, P.1629–1642.

Данная работа была выполнена при поддержке Программы ПРАН П.42 «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий».

## ГЕНЕТИКА СОЦИАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ ДРОЗОФИЛЫ

Камышев Н.Г., Беседина Н.Г., Брагина Ю.В., Гончарова А.А., Даниленкова Л.В.  
*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6*  
*n.g.kamyshhev@yandex.ru*

Социальное поведение у дрозофилы представлено, в основном, двумя формами – агрессивными взаимодействиями особей и ухаживанием. Изучению агрессии и поведения ухаживания у дрозофилы посвящено множество работ. Достигнуты значительные успехи в установлении нейронных и генных сетей, реализующих поведение ухаживания. Найден ряд ключевых нейрхимических факторов, модулирующих агрессивность самцов дрозофилы. Гораздо меньшее внимание в литературе уделено физиологическим и поведенческим **последствиям** социального поведения. В основном, достигнутые результаты касаются закрепления статуса победителя при последовательных стычках самцов. Многократно подтверждены данные об усилении интенсивности ухаживания после содержания самцов в изоляции. По аналогии с млекопитающими это всегда интерпретируется как следствие социального (изоляционного) стресса. В настоящем сообщении мы приводим аргументы в пользу того, что взаимодействие самцов в однополых группах является более стрессогенным фактором, чем содержание их в изоляции, и рассматриваем генетические факторы, оказывающие влияние на последствия этого взаимодействия.

Нами выявлено два последствия содержания самцов дрозофилы в однополых группах по сравнению с их содержанием поодиночке. Первое состоит в подавлении двигательной активности, которое сохраняется до 5-ти суток после изъятия самцов из группы и обнаруживается при её длительной (более 2,5 часов) регистрации после помещения самца в экспериментальную камеру. Второй эффект, который сохраняется у содержавшихся в группе самцов, как минимум, в течение 5-ти часов после изоляции, проявляется в снижении интенсивности ухаживания самца за самкой. Мы впервые обнаружили, что самцы, имеющие предшествующий социальный опыт пребывания в однополой группе, активно избегают столкновения с самкой. Приводятся результаты собственных исследований, проливающие свет на механизмы возникновения обоих эффектов предварительного содержания самцов в группе. Рассматривается действие мутаций и нокдаунов генов, участвующих в сенсорном восприятии стимулов разных модальностей, в метаболических путях, ответственных за обучение, память и уровень агрессии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013-2020 годы (ГП-14, раздел 63).

## НЕЙРОГЕНЕТИКА РИТМИЧЕСКИХ МОТОРНЫХ ФУНКЦИЙ ДРОЗОФИЛЫ

Брагина Ю.В.<sup>1</sup>, Федотов С.А.<sup>1,2</sup>, Камышев Н.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6*

<sup>2</sup> *Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7–9*

*julia\_bragina@mail.ru*

В основе ритмических моторных функций лежит работа специфических ансамблей нейронов - центральных генераторов моторного паттерна (ЦГМП). Генетическая карта ЦГМП дрозофилы только начинает заполняться, однако уже можно с уверенностью говорить о том, что не только развитие и структура ЦГМП зависят от определенных генов, но и определенные этапы реализации моторных программ и управления ЦГМП со стороны высших отделов ЦНС также находятся под генетическим контролем. У дрозофилы для изучения генетики моторных функций используют локомоторный генератор (локомоторная активность) и песенный генератор (песня ухаживания самца). Для выявления отдельных генов, затрагивающих работу ЦГМП, нами был произведен скрининг коллекции из 1000 Р-инсерционных линий. Большинство выделенных мутаций приводило к замедлению работы ЦГМП (увеличение интервалов между запусками ЦГМП, снижение длительности однократного сеанса работы ЦГМП). Идентификация генов, затрагивающих работу одного или обоих ЦГМП, показала, что они кодируют как структурные компоненты мембран и рецепторов, так и ферменты, и транскрипционные факторы. Нейро- и тканеспецифичные нокдауны выделенных генов (методом РНК-интерференции) подтвердили их участие в работе ЦГМП. Обсуждается роль выделенных и уже известных нейрогенов в работе разных типов ЦГМП и возможные механизмы их взаимодействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013-2020 годы (ГП-14, раздел 63).

## НЕЙРОГЕНЕТИКА И НЕЙРОЭПИГЕНЕТИКА ДЕЗАДАПТИВНЫХ СОСТОЯНИЙ, ЗАВИСИМЫХ ОТ ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Дюжикова Н.А., Вайдо А.И., Левина А.С., Павлова М.Б., Ширяева Н.В.  
ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург,  
199034, наб. Макарова, 6  
[dyuzhikova@infran.ru](mailto:dyuzhikova@infran.ru)

Функциональному состоянию нервной системы (ФСНС) отводится важная роль в процессах нейропластичности, в формировании и развитии нейропатологии. Линии крыс с генетически детерминированными различиями по характеристикам ФСНС – ВП, НП ( с высоким и низким порогом возбудимости ) являются уникальной моделью для исследования генетических и эпигенетических механизмов стресс-индуцированных дезадаптивных состояний, поскольку позволяют выявлять персонализированные факторы риска их развития и особенности длительного течения. Комплексное исследование этих линий показало, что в основе долгосрочных эффектов психоэмоционального стресса лежат морфологические изменения мозговых структур, активизация ретротранспозонов, снижение копийности ряда генов. Стресс вызывает также дифференциальные модификации хроматина нейронов, связанные с определенными эпигенетическими изменениями ДНК и гистонов в структурах мозга, детерминирующих возбудимость и входящих в патологический нервный контур тревожно-депрессивных расстройств. Актуальной задачей является изучение влияния стресса на целостность и функциональную активность генома, установление степени повреждений ДНК и сроков их сохранения в клетках головного мозга. С использованием методов количественной иммуногистохимии проводили сравнительный анализ иммуноположительной реакции клеток медиальной префронтальной коры (мПК) и гиппокампа к белку  $\gamma$ -H2AX(phosphoS139)- маркеру двойных разрывов ДНК (ДР) под влиянием длительного эмоционально-болевого стрессорного воздействия (ДЭБС) с учетом генетически детерминированных различий по возбудимости нервной системы крыс линий ВП и НП. Межлинейных различий в спонтанном уровне ДР выявлено не было. ДЭБС через 2 часа после его окончания вызывал возрастание уровня  $\gamma$ -H2AX(phosphoS139) в мПК у обеих линий, в гиппокампе наиболее значимые изменения происходили в зубчатой извилине, и только у крыс линии ВП. Обсуждаются особенности реакций на стресс генома клеток-мишеней в различных структурах мозга и их вклад в своеобразие патогенеза посттравматического и компульсивного синдромов.

## ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК МЫШИ В МОДЕЛИ ОЛЬФАКТОРНОГО СТРЕССА.

Глинин Т. С., Поденкова У. И., Бурунсуз А. В., Мамонтова В. А., Старшова П. А., Даев Е. В.

*Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Кафедра генетики и биотехнологии.*

*t.glinin@gmail.com*

Дестабилизация генома соматических клеток приводит ко многим формам рака, нейродегенеративным заболеваниям и другим патологическим состояниям. Особенно критическую роль дестабилизация генома играет в постоянно делящихся клетках, например, в костном мозге. Известно, что накопление повреждений ДНК и вызванный ими апоптоз являются причиной истощения пула гематопоэтических стволовых клеток и старения костного мозга (Welch et al., 2012; Goodell, Rando 2015).

В нашей работе мы использовали различные психоэмоциональные воздействия, которые индуцируют или, наоборот, подавляют у мышей-реципиентов развитие стресс-реакции. В качестве стрессорного хемосигнала использовали 2,5-диметилпиразин (ДМП) – феромон, выделяемый самками мышей в условиях перенаселения, и вызывающий избегание и угнетение репродукции у мышей-реципиентов обоих полов (Novotny et al., 1986). В качестве анти-стрессорного воздействия использовали предъявление самцам хемосигналов самок-одиночек.

Было обнаружено, что уже однократное предъявление ДМП, так же, как и другие стрессоры (иммобилизация, хемосигналы мочи кошек), дестабилизирует геном клеток костного мозга самцов мышей. Через 2 часа после начала воздействия в костном мозгу возрастает количество клеток с микроповреждениями ДНК, выявляемых методом щелочного кометного электрофореза. Уже после 4 часов воздействия ДМП в делящихся клетках костного мозга повышена частота нарушений митоза, выявляемая ана-телофазным методом учета хромосомных aberrаций, при этом пик повреждений приходится на 24 часа.

Изучение организменных путей, через которые осуществляется дестабилизация генома при действии ДМП и других стрессоров (иммобилизации) показало, что дестабилизация генома клеток костного мозга при действии 2,5-ДМП ассоциирована с увеличением концентрации кортикостерона. Выявленный эффект дестабилизации генома при действии ДМП, а также иммобилизации, может быть полностью или частично нейтрализован применением фармакологических блокаторов стресс-гормонов. Изменение стабильности генома клеток костного мозга при действии ольфакторных хемосигналов полностью опосредовано обонятельным эпителием носовой полости и ассоциировано с модуляцией активности нейронов главных обонятельных луковиц самцов мышей. Обнаружено, что хемосигналы самок-одиночек могут подавлять развитие ольфакторно индуцированного стресса как на уровне ЦНС, так и на гормональном уровне и стабилизировать геном клеток костного мозга интактных, стрессированных, а также облученных в дозе 4 Гр самцов мышей.

Таким образом, социально-значимые ольфакторные сигналы, могут, как вызывать стресс-реакцию, так и подавлять её, приводя соответственно к дестабилизации или стабилизации генома соматических клеток костного мозга, тем самым осуществляя регуляцию этого важного параметра жизнеспособности животных.

Исследование поддержано грантом РФФИ: №16-04-00678.

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ЭКО

Мошкин М.П., Герлинская Л.А.

*Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-кт Академика Лаврентьева, 10, 630090*

[mmp@bionet.nsc.ru](mailto:mmp@bionet.nsc.ru)

Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) становится все более массовой процедурой. Несмотря на сравнительно молодой возраст (менее 41 года), лица, родившиеся в результате ЭКО, отличаются по многим фенотипическим характеристикам, включая отклонения показателей здоровья. Все это указывает на устойчивые модуляции фенотипа, которые по современным представлениям базируются на эпигенетических механизмах. Клинические наблюдения показывают, что у детей, полученных в результате ЭКО, меняется метилирование и ацетилирование как ДНК, так и гистонов. Расшифровка причин фенотипических изменений у потомков, получаемых в клиниках вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), сталкивается с практически непреодолимой проблемой дифференцирования эффектов родителей и собственных эффектов ЭКО. Реально разрешить эту дилемму можно только в условиях контролируемого эксперимента на лабораторных млекопитающих. Эти эксперименты дают прямые ответы на вопросы об эпигенетической роли состояния гамет и семенной жидкости, условий культивирования эмбрионов и фенотипических свойств вынашивающих матерей.

Исходя из растущей значимости ЭКО, на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных ФИЦ ИЦиГ СО РАН развернуты работы по изучению вклада ВРТ в модуляцию индивидуального развития и по поиску средств эпигенетической коррекции наследственных предрасположенностей к болезням. Первые результаты, полученные в рамках программы, показывают, что:

- антигенная стимуляция самцов за 7-9 дней до спаривания приводит к увеличению темпов роста зародышей, при этом экспериментально доказано, что сперматозоиды антигенстимулированных самцов тормозят, а семенная жидкость, наоборот, ускоряет эмбриональный рост;
- процедура ЭКО приводит к увеличению флуктуирующей асимметрии паттернов экспрессии генов в левой и правой лапах эмбрионов, что во многом обусловлено условиями инкубирования зародышей;
- пересадки чистопородных эмбрионов матерям разных генетических линий приводят к стойким модуляциям фенотипа потомков, которые в зависимости от генотипа вынашивающей матери затрагивают такие жизненно важные характеристики как жировой обмен, реактивность систем врожденного и приобретенного иммунитета.

## **EPIGENETIC REGULATION OF CONTEXT MEMORY MAINTENANCE.**

Balaban P.M. , Vinarskaya A., Zuzina A.

*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia.*

[pmbalaban@gmail.com](mailto:pmbalaban@gmail.com)

In the present study we tested possible ways of modification of the long-term context memory using the reconsolidation process as a tool for memory labilization. Recently it was shown that the reinforcing neurotransmitter serotonin is necessary for successful repeated reconsolidation of context memory in terrestrial snails, and we used injection of the serotonin precursor 5-HTP for reinstatement of memory after its impairment during reconsolidation with a protein synthesis blocker or with a specific inhibitor (ZIP) of atypical proteinkinase PkMzeta shown to be involved in memory maintenance. It was observed that application of 5-HTP known to increase the serotonin concentration or just reminding did not restore the context memory, while combination of 5-HTP+reminder effectively reinstated the impaired context memory. Application of an epigenetic regulator, histone deacetylase inhibitor sodium butyrate (NaB), was not as effective as serotonin, and the reminder+NaB reinstated memory only partially after impairment with ZIP, while additional session of training under NaB effectively reinstated the impaired memory. Application of an inhibitor of DNA methyltransferases RG108 erased context memory, and the memory was not reinstated by reminder or additional training session, while NaB+reminder and NaB+training partially reinstated the memory. Obtained data confirmed the assumption that serotonin/reinforcing transmitter is necessary for successful reconsolidation, demonstrated possible ways of memory regulation during the reconsolidation process by the epigenetic factors.

Supported by Russian Science Foundation, Program of Russian Academy of Sciences “Basic research for biomedicine technologies”.

## STOCHASTICITY OF RNA “BIRTH/DEATH” RATE IS INTRINSICALLY DETERMINED BY DNA SEQUENCE CONTEXT AND EXTRINSICALLY MODULATED BY METABOLIC CUES AND AGING

de Jong T.V<sup>1</sup>., Guryev V<sup>1</sup>., Moshkin Y. M<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> *European Research Institute for the Biology of Ageing, University of Groningen, University Medical Centre Groningen, Groningen, The Netherlands*

<sup>2</sup> *Department of Genetic Resources of Experimental Animals, Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia*

[yury.moshkin@gmail.com](mailto:yury.moshkin@gmail.com)

Gene expression significantly deviates from a stochastic Poisson process as RNA “birth-death” reaction rates are themselves stochastic. Here we show that coefficients of variation of RNA synthesis and processing rates inferred from cell population are correlated and largely depend on DNA-sequence context. We developed models based on nucleotide sequences predicting relative robustness, inverse stochasticity, of RNA “birth/death” rate for mouse and rat genes with unexpectedly high accuracy. We observed that high GC content downstream of the transcription start site, which is expected to increase transcription energy costs, lowers the robustness of expression rates. In line with this idea, we observed a non-productive accumulation of RNA-polymerase II on such genes followed by its premature displacement. Promoter architecture, DNA methylation, nucleosome phasing and their post-translational modifications are also predictive of relative gene rates robustness, albeit to a lesser extent. Metabolic cues and ageing modulate robustness of RNA “birth/death” rate. In murine models, high-fat diet scales up coefficients of variation of RNA splicing/degradation, but not synthesis rates. Aging also tends to increase stochasticity of gene expression process. Thus, we conclude that the relative noise in RNA synthesis/processing rates is intrinsically encoded, while its average level can be extrinsically tuned.

## GENETICS OF LONGEVITY AND AGING

Moskalev A.A.

<sup>1</sup>Laboratory of Molecular Radiobiology and Gerontology, Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, 167982, Syktyvkar, Komi Republic, Russian Federation

<sup>2</sup>Department of Ecology, Institute of Natural Sciences, Syktyvkar State University, 167001, Russia, Komi Republic, Syktyvkar, Russian Federation

<sup>3</sup>Moscow Institute of Physics and Technology, 141701 Dolgoprudny, Moscow Region, Russian Federation

[amoskalev@list.ru](mailto:amoskalev@list.ru)

Lifespan is a complex quantitative characteristic that makes a significant contribution to the Darwinian adaptiveness. The disclosure of the genetic structure of longevity is a fundamental problem of the evolution of ontogeny, evolutionary genetics and molecular gerontology. Under optimal conditions, the lifespan is determined by the aging rate. The aging process is made up of interrelated processes that take place at the organismal, tissue, cellular, molecular and genetic levels. These include deregulation processes of homeostasis maintenance, metabolic reactions and sending intra- and intercellular signals, accumulation of senescent cells, damaged organelles and macromolecules, epigenetic changes and genetic instability.

Genes and signaling pathways that regulate stress response, metabolism, growth of cells and organism, maintaining of genome and proteome integrity, qualitative and quantitative mitochondria composition, inflammatory response, apoptosis and selection of viable cells, as well as circadian rhythms were considered. The redistribution of energy resources from one pathway to the other can induce or inhibit the "longevity program", providing increased vitality and aging slowdown. Based on the analysis of geroprotective potential of examined genes' regulation, main targets have been identified to slowdown aging and achieve healthy longevity. These trends include heterochromatin recovery, retrotransposition suppression, aneuploidy elimination; restoring the acidity of lysosomes; telomere elongation; suppression of chronic inflammation; elimination of protein cross-links; elimination of senescent cells; recovery of NAD<sup>+</sup> levels; inhibition of mTOR, S6K, TGF- $\beta$ , AT1; controlled activation of the "longevity program" genes FOXO, AMPK, PGC1 $\alpha$ , NRF2.

**Acknowledgment:** The study was carried out within the framework of the state task on themes "Molecular-genetic mechanisms of aging, lifespan, and stress resistance of *Drosophila melanogaster*", state registration № AAAA-A18-118011120004-5 and "A combination of factors of different nature (low temperature, lack of lighting, restrictive diet, and geroprotector) to maximize the lifespan of *Drosophila*. Complex UrB RAS Programme" № 18-7-4-23, state registration № AAAA-A18-118011120008-3.

## CALCIUM HYPOTHESIS OF ALZHEIMER'S DISEASE: PRO ET CONTRA AND NEW DISCOVERIES

Ryazantseva M.A.<sup>1,2</sup>, Skobeleva K.V.<sup>2</sup>, Kaznacheyeva E.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Helsinki, Finland, Helsinki, Viikinkaari 1; <sup>2</sup>Institute of Cytology RAS, Russia, St. Petersburg, Tikhoretskiy ave 4

[mariaandreevna@gmail.com](mailto:mariaandreevna@gmail.com)

Alzheimer's disease (AD) is a chronic neurodegenerative disorder that affects millions of people worldwide. The disease mechanisms are still illusive despite a century of the studies and therefore there is no effective treatment. The four genes have been proved to be associated with AD: *APP*, *PSEN1*, *PSEN2* (mutations for autosomal-dominant type of familial AD) and *APOE* (risk gene). AD can be subdivided into early-onset AD (manifestation < 65 years) and late-onset AD (onset ≥ 65 years). The familial AD is usually early-onset when the sporadic type of disease occurs predominantly in older adults. The sporadic type of disease risks is believed to be genetic as well with many genes usually involved. Many genome-wide association studies in AD have confirmed *APOEε4* as the most significant risk factor. In addition, a large number of genetic risk factors for AD have been implicated in these GWASs. Consistent and robust associations between calcium signalling pathway genes and human episodic memory performance in AD patients have been demonstrated recently. This data supports the hypothesis on Alzheimer's disease pathogenesis introduced by Prof. Khachaturian in late 80s of 20<sup>th</sup> century. The "Calcium Hypothesis" of Alzheimer's disease suggest that disruption in the calcium signalling regulation leads to neurodegeneration. The calcium signalling dysregulation has been repeatedly observed in cell cultures and animal models of AD. Our results obtained with *Drosophila* and mouse models and human cells model support the Hypothesis and propose a role for calcium sensors STIM in dysregulation of voltage-gated and store-operated calcium channels in AD.

## INDEPENDENT AND AGE-SPECIFIC ASSOCIATIONS OF *TOMM40* AND *APOE* POLYMORPHISMS WITH BODY MASS INDEX: EVIDENCE FROM REPRODUCTIVE TO OLDEST-OLD AGES

Kulminski A.M., Loika Y., Arbeev K.G., Yashin A.I., Culminkaya I.

*Biodemography of Aging Research Unit, Duke University, Durham, NC 27708-0408, USA.*

*alexander.kulminski@duke.edu*

Prior research suggests that Alzheimer's disease and body weight may be regulated by the same biological mechanisms. The *TOMM40-APOE* polymorphisms are known for their strong, antagonistic associations with Alzheimer's disease and body weight with the Alzheimer's-disease-risk-increasing alleles associated with smaller BMI. While a stronger role of the *APOE* than *TOMM40* variants in Alzheimer's disease was suggested, comparative contribution of the *TOMM40-APOE* variants in the regulation of body weight remains elusive. We examined additive effects of rs2075650 and rs157580 *TOMM40* variants and the *APOE*  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$  polymorphism on body mass index (BMI) in age-aggregated and age-stratified cohort-specific and cohort-pooled mega analysis of more than 23,000 individuals of European ancestry aged 20-100 years from six longitudinal studies. Minor allele of rs2075650 and the  $\epsilon 4$  allele were individually associated with BMI ( $\beta=-1.39$ ,  $p=1.94\times 10^{-9}$ ,  $\beta=-1.57$ ,  $p=1.34\times 10^{-8}$ , respectively). Conditional analysis with rs2075650 and the  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$  polymorphism identified independent BMI-lowering associations for minor allele of rs2075650 ( $\beta=-0.83$ ,  $p=7.57\times 10^{-3}$ ) and the  $\epsilon 4$  allele ( $\beta=-0.97$ ,  $p=6.48\times 10^{-3}$ ). Polygenic mega-analysis identified additive effects of the rs2075650 and the  $\epsilon 3/\epsilon 4$  genotype, and strong BMI-lowering association for the rs2075650 heterozygous and  $\epsilon 4/\epsilon 4$  genotypes. Conditional analysis with rs2075650, rs157580, and the *APOE*  $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$  polymorphisms identified independent BMI-lowering (rs2075650, rs157580, the  $\epsilon 4$  allele) and BMI-increasing (the  $\epsilon 2$  allele) associations with BMI. We also performed age-stratified conditional analysis, which revealed support for a differential and independent association of the  $\epsilon 4$  allele with BMI in younger and older individuals. We show that *TOMM40* and *APOE* polymorphisms are independently and additively associated with BMI. The *APOE*  $\epsilon 4$  allele is associated with BMI in older individuals but not in younger individuals.

**Acknowledgements:** This work was supported by the National Institute on Aging (grant numbers P01 AG043352, R01 AG047310, and R01 AG061853), NIH, USA.

## РОЛЬ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК В НЕЙРОПАТОЛОГИИ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ *NTE* ЧЕЛОВЕКА

Саранцева С.В., Рябова Е.В., Комиссаров А.Е. Сурина Н.В., Жмуйдина Д.Р., Рябова Е.В.

Петербургский Институт Ядерной Физики им. Б.П.Константинова НИЦ «Курчатовский Институт», Гатчина, Орлова роща, стр.1., Россия

[Sarantseva\\_SV@pnpi.nrcki.ru](mailto:Sarantseva_SV@pnpi.nrcki.ru)

Глиальные клетки (ГК) являются наиболее распространенными клетками ЦНС млекопитающих и составляют до 90% от общего количества клеток мозга, обеспечивая питание и нормальное функционирование нейронов, а также поддерживают постоянство среды вокруг них. Глия играет роль электрического изолятора, а также служит пространственным барьером для распространения медиаторов и ионов, участвует в навигации роста нейронов. Благодаря своей способности к делению в течение всей жизни организма ГК участвуют в процессе восстановления и регенерации нервной ткани. ГК являются не только “опорными” клетками для нейронов, но также регулируют важные аспекты развития и функционирования нервной системы.

Основная цель работы - изучение роли глиальных клеток в развитии нейропатологических процессов, лежащих в основе нейродегенеративных заболеваний человека, обусловленных нарушениями в работе гена нейротоксичной эстеразы (neuropathy target esterase, NTE). Ген *NTE* играет важную роль в развитии синдрома отложенной нейротоксичности (organophosphorus compound-induced delayed neuropathy, OPIDN), вызванной интоксикацией фосфорорганическими соединениями, а также мутации в нем приводят к развитию одной из форм наследственной спастической параплегии (НПС, HSP 39) и ряду синдромов.

Плодовую мушку *Drosophila melanogaster* успешно используют в качестве модельного организма для исследования функции глии в процессе развития. Использование *Drosophila melanogaster* дает возможность изучать различные нейрон – глия взаимодействия в интактном организме, а использование широкого набора молекулярно-генетических методов позволяет исследовать фундаментальные вопросы природы ГК в норме и патологии.

В работе использованы два основных экспериментальных подхода: экспрессия в *Drosophila* гена *NTE* человека, а также изучение гена *swiss cheese (sws)* *Drosophila*, ортолога гена *NTE*/ Мутации в *sws* приводят к ранней гибели, прогрессирующей с возрастом нейродегенерации в мозге, апоптозу нейронов и глиальных клеток, и образованию многослойной глиальной мембраны. Интересен тот факт, что *sws* ведет себя автономно в нервных и ГК, так дегенерация в нейропиле предотвращалась только при гиперэкспрессии *sws* в нейронах, а образование аномальных складчатых структур блокировалось гиперэкспрессией *sws* только в глиальных клетках

Показана роль разных подтипов глиальных клеток в развитии нейродегенерации, окислительного стресса, продолжительности жизни и поведения.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-34-00982.

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМА ОСОБЕЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* С ПОДАВЛЕННОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА *SWISS CHEESE*

Мелентьев П.А., Рябова Е.В., Комиссаров А.Е., Шарапенков Э.Г., Саранцева С.В.  
Петербургский Институт Ядерной Физики им.Б.П.Константинова НИЦ «Курчатовский  
Институт», Гатчина, Орлова роща, д.1., Россия  
[melentev.pavel.spb@gmail.com](mailto:melentev.pavel.spb@gmail.com)

Ген *sws* (*swiss cheese*) *Drosophila melanogaster* является эволюционно консервативным: его ортологи найдены у широкого круга организмов от бактерий до млекопитающих. У *Drosophila melanogaster sws* экспрессируется в нервных и глиальных клетках, он важен для поддержания их жизнедеятельности и функционирования. Дефицит нормального функционирующего SWS ведёт к нейродегенерации, изменению морфологии глиальных клеток и нейромышечных окончаний, нарушению поведения особей, а также сокращению показателей продолжительности их жизни. Дисфункция ортолога SWS у человека приводит к целому спектру нейропатологий. При этом отмечается явно выраженное функциональное сходство соответствующих белков у дрозофилы и млекопитающих (в том числе и человека). Ген *sws* кодирует многофункциональный белок, имеющий активность фосфолипазы B, который участвует в метаболизме фосфатидилхолина. Белок SWS также способен ингибировать каталитические субъединицы изоформы C3 протеинкиназы A. Несмотря на то, что функции SWS известны, механизмы нейропатологии и сокращения продолжительности жизни, вызванные дисфункцией SWS, остаются невыясненными. Не выявлены и все молекулярные события, происходящие при нарушении функций SWS, в том числе и те, которые сопровождаются изменением экспрессии определённых генов.

Вследствие дифференцированности клеток нервной системы *sws* играет в них отличающуюся роль. Нами показано, что дисфункция *sws* в некоторых типах глиальных клеток приводит к нейродегенерации и сокращению продолжительности жизни особей. Комплексное изучение последствий подавления экспрессии *sws* в разных типах глиальных клеток необходимо для выявления закономерностей его функционирования как в норме, так и при патологии. Проведя анализ транскриптома у особей дрозофилы с нокдауном гена *sws* в разных типах глиальных клеток мы выявили увеличение экспрессии генов, ответственных за защитные, стрессовые и иммунные реакции, что позволяет предложить ряд гипотез о возможных молекулярных последствиях дисфункции гена *sws*.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РОЛИ GDNF В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ НЕРВНЫХ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Павлова Г.В.<sup>1,2,3</sup>, Шамадыкова Дж.В.<sup>1</sup>, Пантелеев Д.Ю.<sup>1</sup>, Ревещин А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ИБГ РАН, Москва, Россия, ул. Вавилова, д. 34/5; <sup>2</sup>ФГАУ «НИИ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия, 4-я Тверская-Ямская ул., 16; <sup>3</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Институт молекулярной медицины, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

[lkorochkin@mail.ru](mailto:lkorochkin@mail.ru)

Одной из самых социально-значимых проблем человеческой популяции является травматические или нейродегенеративные нарушения нервной системы, приводящие к недееспособному состоянию пациента. Например, при болезни Паркинсона происходит гибель дофаминергических нейронов субстанции *nigra*, которая приводит к непоправимым последствиям, серьезным разрушениям нервных связей, мышечная ригидности, гипокинезии, тремору конечностей, постуральной неустойчивости и в конечном итоге к инвалидности и смерти. К сожалению, не существует успешной терапии подобных нарушений. На данный момент есть несколько направлений, которые направлены на то или иное решение. Одно из таких направлений – это поиск факторов, способных стимулировать сохранение популяции нейронов в зоне массовой гибели. Одним из факторов, который может быть использован в качестве нейротектора является GDNF. Известно, что GDNF необходим для поддержания жизнеспособности дофаминергических нейронов головного мозга, а также периферических, симпатических, парасимпатических и сенсорных нейронов. Однако результаты клинических испытаний, проведенных на людях, оказались противоречивыми. Таким образом, исследователи вернулись к изучению особенностей GDNF с целью получения более эффективных препаратов на его основе. Было показано, что у человека существует несколько изоформ GDNF, которые отличаются путями секреции из клетки. Известно, что размер про-области GDNF влияет на преимущественный путь транспортировки фактора из клетки и на индукционную активность фактора. В нервной ткани человека ген *Gdnf* представлен двумя матричными РНК, которые образуются посредством альтернативного сплайсинга: полноразмерный транскрипт pre-(a)pro- *Gdnf* и короткий транскрипт pre-(b)pro- *Gdnf*, у которого не хватает 78 bp в участке зашифрованного про-домена. При этом было показано, что уменьшение размера про-области изменяет путь транспорта GDNF и в этом случае продукт pre-(b)pro-*Gdnf* секретируется из клетки минуя аппарат Гольджи. Наличие различных сплайс-вариантов, а также отсутствие гликозилирования и фосфорилирования продукта pre-(b)pro-*Gdnf* может говорить о различных функциях этих вариантов факторов. Из этого мы сделали вывод, что возможно существует несколько форм GDNF обладающих различными функциями и поставили цель найти форму GDNF, которая может быть терапевтически эффективна при процессах массовой гибели нейронов. Для достижения этой цели необходимо изучение сплайсинга этого фактора. В ходе наших исследований было показано, что делетирование pre- и pro-областей у GDNF давало возможность получить более активную форму mGDNF. Полученный нами mGDNF/GFP из трансгенных клеток стимулировал нейральную дифференцировку на моделях *in vitro* и *in vivo* намного эффективнее, чем коммерчески recGDNF (pre-pro-GDNF), который и применялся в неудавшихся клинических исследованиях.

Работа выполнялась при поддержке Программы фундаментальных исследований президиума РАН «Фундаментальные основы технологии физиологических адаптаций» и Программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология и постгеномные технологии».

## ЛЮДИ И ГЕНЫ: КОЭВОЛЮЦИЯ КУЛЬТУРЫ И ГЕНОМА

Маркель А. Л.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

Показано, что скорость эволюции человека за последние десятки тысяч лет была намного выше, чем за предшествующие несколько миллионов лет. Это может быть обусловлено несколькими факторами, важнейшим из которых является коэволюция культуры и генома. В результате миллионов лет биологической эволюции предшественников *Homo sapiens* сформировался головной мозг человека, который стал основным инструментом развития вначале примитивной, а в последующем невообразимо сложной человеческой культуры. Культурная жизнь человека является неотъемлемой частью его биологической жизни и человек является единым продуктом как генов, так и культуры, причем также как геном обуславливает механизмы мозговой деятельности и формирование культуры, также и культура обуславливает эволюцию генома. То есть речь идет о коэволюции. В своем развитии человек модифицирует и реконструирует свою социально-культурную среду и тем самым создает новые векторы для дарвиновского отбора и для формирования новых направлений генетической эволюции. Например, развитие культуры земледелия и животноводства изменило траекторию генетической эволюции человека. Но главным культурным феноменом, который повлиял на генетическую эволюцию мозга человека, стало развитие символического мышления и языка. Символьный грамматически сконструированный язык является уникальной прерогативой человека и воплощением всей его культуры. Сам же язык развился на основе как генетических (речевые зоны мозга и др.), так и культурных предпосылок, в частности, суперсоциальности (термин М.Томаселло) человека. Эволюция языка и культуры по аналогии с эволюцией генома по своей сути являются дарвиновским процессом, в результате которого путем селекции и передачи в ряду поколений формируется адаптивные для данного сообщества варианты культуры и языка. О такого рода эволюции языка писал Ч. Дарвин – «The survival and preservation of certain favoured words in the struggle for existence is natural selection». В свою очередь, культура создает ту среду, в которой сообразно открывающимся возможностям эволюционирует геном, подчас просто «догоняя» стремительно меняющуюся культурную среду. Конечно, коэволюция культуры и генома наиболее ярко представлена у человека, но и у животных, особенно подвергнутых влиянию человека (например, одомашнивание лисиц), можно наблюдать такой же процесс.

**Симпозиум XX: Селекция и биотехнология микроорганизмов / Symposium  
XX: Biotechnology and breeding of microorganisms****ОБРАЩЕННОЕ БЕТА-ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ – ГИБКАЯ  
БИОХИМИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО  
БИОСИНТЕЗА ШИРОКОГО СПЕКТРА  
ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ПРОМЫШЛЕННО ЗНАЧИМЫХ  
ХИМИКАТОВ**Гулевич А.Ю.<sup>1</sup>, Скороходова А.Ю.<sup>1</sup>, Дебабов В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ “Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”, Россия, Москва, 117545 1-ый Дорожный проезд д.1;  
[gulevich@genetika.ru](mailto:gulevich@genetika.ru)

Современной тенденцией промышленной биотехнологии ориентированной на получение полезных химикатов является разработка микробных биосинтетических платформ. Предполагается, что многие промышленно значимые химикаты могут быть получены в результате серий относительно простых превращений из нескольких ключевых интермедиатов центрального метаболизма клетки, таких как ацетил-КоА, пировиноградная и щавелевоуксусная кислоты. Таким образом, биосинтез структурно родственных соединений, в рамках соответствующего подхода, возможен на основе единого базового рекомбинантного штамма, при вовлечении определенного центрального метаболита в целевой платформенный биохимический путь. В ряде случаев подобные биохимические платформы обладают свойством итеративности, обеспечивая приращение углеродной цепи формируемых молекул на каждом новом функциональном раунде. Такая характеристика микробных биосинтетических платформ является их дополнительным преимуществом,кратно расширяющим спектр возможных продуктов биосинтеза.

Биохимической основой одной из немногих экспериментально верифицированных на сегодняшний день итеративных биосинтетических платформ служит обращенный путь бета-окисления жирных кислот (БОЖК). При искусственном обращении в биосинтетическую сторону, БОЖК использует в качестве ключевого предшественника ацетил-КоА, вовлекая тот же метаболит в удлинение углеродной цепи на каждом последующем раунде цикла. Ключевые реакции обращенного БОЖК включают первичную конденсацию затравочной молекулы ацил-КоА и удлиняющей молекулы ацетил-КоА с формированием 3-кетואцил-КоА, его конверсию в 3-гидроксиацил-КоА, дегидратацию последнего с формированием 2-еноил-КоА и восстановление двойной связи с образованием удлиненной молекулы ацил-КоА. В итоге, в зависимости от терминальных ферментов, катализирующих финальные стадии превращений соответствующих КоА-интермедиатов цикла, конечными продуктами биосинтеза могут являться различные типы химических соединений.

С использованием принципа обращения БОЖК продемонстрирован биосинтез из гликолитических субстратов алканов, алифатических карбоновых кислот и спиртов, содержащих от 4 до 10 атомов углерода. Показан биосинтез функционализированных производных: 1,3-бутандиола, 3- и 4-гидроксимасляной, а также адипиновой и левулиновой кислот. Эти соединения обладают высоким рыночным потенциалом и их микробиологический синтез может стать экологически оправданной альтернативой нефтехимическому.

**Благодарности:** Работа поддержана грантом РФФИ № 18-29-08059.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОМНОЙ И МЕТАГЕНОМНОЙ ИНФОРМАЦИИ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Карначук О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Томский государственный университет, Россия, Томск, пр. Ленина, 36  
[olga.karnachuk@green.tsu.ru](mailto:olga.karnachuk@green.tsu.ru)

Метагеномные исследования разнообразия микроорганизмов привели к пониманию того факта, что большинство прокариот не поддается культивированию. В последнее десятилетие исследования сообществ микроорганизмов стремятся к определению метагеномов экосистем и сборке из них композитных геномов. Последние позволяют предсказать физиологию микроорганизмов, которые возможно, никогда не будут получены в виде лабораторных культур. Происходит и обратный процесс - информация о свойствах, закодированных в геномах некультивируемых форм, помогает в «приручении» этих организмов к росту в лаборатории, а определение метагенома позволяет обнаружить целевые группы для культивирования в пробах из различных местообитаний.

В докладе будут представлены примеры использования геномной и метагеномной информации для выделения ранее некультивируемых организмов подземной биосферы. Загадочная бактерия, *Candidatus Desulforudis audaxviator*, была впервые обнаружена в глубоких подземных горизонтах шахты по добыче золота в Южной Африке. Более 99% метагенома из этой системы составлял *Desulforudis*. Сборка композитного генома бактерии выявила, что основным энергетическим метаболизмом организма является диссимиляционное восстановление сульфатов. Предполагаемая способность использовать в качестве единственного донора электронов водород от радиолиза воды, породила многочисленные спекуляции в области использования *Desulforudis* в качестве модели для астробиологических исследований. Однако все попытки культивировать организм оставались безуспешны. Исследователи относили эти неудачи к предполагаемой низкой скорости роста организма, определяя ее как одно деление в тысячу, или даже миллион лет.

Молекулярные подписи организма были обнаружены в метагеноме глубокого подземного водного бассейна в Западной Сибири. Информация о потенциальных донорах электрона известная из генома была использована для выделения бактерии в нашей лаборатории. Организм был адаптирован к лабораторным условиям и быстрому росту с временем удвоения 28.5 часов. Знания о потенциальных субстратах, типе метаболизма, а также механизмах устойчивости к стрессорным факторам, полученные из композитных геномов, позволяют усовершенствовать подходы к культивированию и получить культуры организмов ранее считавшихся некультивируемыми.

**Благодарности:** Исследования поддержаны грантом РФФИ 18-14-00130.

## МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ШТАММОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КЛЮЧЕВЫХ ИНТЕРМЕДИАТОВ СИНТЕЗА ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ ИЗ ПРИРОДНЫХ СТЕРИНОВ

Донова М.В., Довбня Д.В., Карпов М.В., Ивашина Т.В., Брагин Е.Ю., Замалутдинов А.В., Фокина В.В., Стрижов Н.И.

ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино, Московская обл., 142290

[donova@ibpm.pushchino.ru](mailto:donova@ibpm.pushchino.ru)

Стероиды представляют собой обширный класс органических соединений, выполняющих важнейшие жизненные функции во всех живых системах. Медицинские препараты на основе стероидов важны для обеспечения качества жизни, здорового развития и старения. Их производство с применением экономичных и экологически безопасных микробных технологий является важной задачей биотехнологии.

Фитостерины, - смесь растительных стериннов, получаемых из отходов лесохимической или пищевой промышленности, являются дешевыми и доступными сырьевыми материалами. Многие актинобактерии способны окислять стеринны по так называемому 9(10)-секо-пути. Метаболические блоки, препятствующие полной деградации стероидного ядра и протеканию отдельных реакций каскада окисления боковой цепи стериннов, обеспечивают накопление ценных стероидных - ключевых интермедиатов синтеза широкого ряда фармацевтических субстанций.

Нами осуществлено секвенирование геномов ряда перспективных для промышленного использования штаммов стеринтрансформирующих актинобактерий (*Mycobacterium neoaurum* ВКМ Ас-1815Д, 1816Д, NRRL 3805В, *Mycobacterium* sp. ВКМ Ас-1817Д, *Nocardioides simplex* ВКМ Ас-2033Д). Изучена дифференциальная экспрессия генов стероидного катаболизма у штаммов 1815Д, 1817Д и 2033Д, выращенных в различных условиях индукции. Выявлены специфические гены и кластеры генов, важные для специфичных реакций структурной модификации стероидов и регуляции метаболических потоков. На основе полученных данных созданы микобактериальные штаммы с улучшенными биокаталитическими возможностями для получения из фитостериннов ценных стероидных интермедиатов андростанового и прегнанового ряда.

Важным направлением исследований является создание клеточных биокатализаторов нового поколения на основе гетерологической экспрессии эукариотических белков стероидогенеза в бактериальных хозяевах. Созданы рекомбинантные штаммы микобактерий, продуцирующие важные стероидные гормоны, - тестостерон и прогестерон, в одну биотехнологическую стадию из стериннов. Впервые показана возможность получения прегненолона при экспрессии системы стероидогенеза млекопитающих в метиловых бактериях.

Результаты вносят вклад в понимание особенностей бактериального катаболизма стероидов, важны для биомедицинских исследований и экобиотехнологии, создают научно-практическую основу многоцелевого производства стероидных гормонов и синтетических стероидов нового поколения.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФ (Грант 18-14-00361).

## АНАЛИЗ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВИНА ТИПА ХЕРЕС, С ПОМОЩЬЮ ГЕНОМНЫХ И ТРАНСКРИПТОМНЫХ ПОДХОДОВ ВЫЯВИЛ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ, ОТОБРАННЫЕ В ХОДЕ ДОМЕСТИКАЦИИ

Эльдаров М.А.<sup>1</sup>, Белецкий А.В.<sup>1</sup>, Танащук Т.Н.<sup>2</sup>, Кишковская С.А.<sup>2</sup>, Равин Н.В.<sup>1</sup>,  
Марданов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Россия, Москва, проспект 60-летия октября 7-1, <sup>2</sup> Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия „Магарач“ РАН, Россия, Ялта, ул. Кирова, 31

Штаммы *Saccharomyces cerevisiae*, используемые для приготовления вина типа Херес, представляют собой специализированную группу дрожжей, являющуюся результатом адаптивной эволюции в процессе доместикации. Особенностью хересных штаммов является способность расти в виде пленки на поверхности сброженного виноматериала, при этом их метаболизм переключается с ферментативного на окислительный. Результаты сравнительных геномных исследований показали, что испанские и французские хересные штаммы представляют отдельную линию винных дрожжей, отделившуюся сравнительно недавно и прошедшую «бутылочное горлышко» в процессе эволюции.

В данной работе мы просеквенировали геномы трех штаммов хересных дрожжей из коллекции микроорганизмов виноделия ВНИИ виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, которые используются для приготовления вина типа Херес в России и были выделены из разных географических регионов. Сравнительный анализ геномов 118 штаммов винных и хересных дрожжей показал, что все хересные штаммы, включая три новых, образуют кластер в группе винных дрожжей. В результате полногеномного анализа выявлено 2270 характерных для хересных штаммов однонуклеотидных полиморфизмов (СНП) в 1337 локусах. Специфические для хересных штаммов СНП были найдены в генах, продукты которых существенны для морфологии клетки, митотического цикла, гомеостаза ионов, ДНК репарации, метаболизма углеводов и липидов, биогенеза клеточной стенки. Пангеномный анализ выявил несколько известных «не рефересных» локусов, которые, вероятно, имеют важное значение для винных штаммов. Были обнаружена потеря генов аспарагиназы, локуса утилизации мальтозы, а также FRE-FIT локуса, вовлеченного в транспорт железа. Потеря FRE-FIT локуса вместе со специфической мутацией в транскрипционном факторе Aft1, по-видимому отвечает за более эффективную аккумуляцию железа на железodefицитных средах по сравнению в винными штаммами. Для одного из хересных штаммов проведен полногеномный анализ транскрипции на различных этапах получения хереса. Выявлены дифференциально экспрессирующиеся гены, в том числе обнаружена индукция генов флокуллинов, систем защиты от окислительного стресса, переключения путей метаболизма, а также многих генов *S. cerevisiae* с неизвестными функциями. Полученные результаты дают новую информацию о генетическом разнообразии штаммов хересных дрожжей и их адаптации к условиям виноделия.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 16-16-00109.

## COORDINATED REGULATION OF NUTRIENT METABOLISM GENES IN METHYLOTROPHIC YEAST *PICHIA PASTORIS*

Rumyantsev A.M. , Volkov A.A., Ivanova A.V., Sidorin A.V., Sharaev N.I.

*Saint Petersburg University, Russia, Saint Petersburg, Universitetskaya Emb. 7/9, 199034*

*rumyantsev-am@mail.ru*

The adaptation of microorganisms to environmental changes occurs, to an extent, at the transcriptional level. In this case, genes encoding key enzymes of metabolic pathways are usually able to change the level of expression in response to a deficiency of several biogenic elements. Yeasts can use a wide variety of compounds as sources of carbon, nitrogen and orthophosphate and are able to synthesize a variety of enzymes for different pathways of assimilation and biosynthesis. Methylophilic yeast *Pichia pastoris* belong to the unique group of microorganisms capable of utilizing methanol as the sole source of carbon and energy. Expression of methanol utilization genes (MUT-genes) depends on type of available carbon source: they are repressed by glycerol or glucose and induced in media with methanol. *P. pastoris* are widely used in modern biotechnology as recombinant protein production host.

The aim of this work was to study coordinated regulation of *P. pastoris* metabolism in response to a combination of various environmental factors.

We demonstrate that qualitative and quantitative changes in components of the media, such as nitrogen source or orthophosphate concentration, affect the expression of MUT-genes in *P. pastoris*. On the other hand, expression of genes, involved in nitrogen metabolism, depends on the type of carbon source present in the media. A key role in these processes belongs to dominant kinases, especially Tor kinase, which ensure the interaction of various signaling pathways. It was also shown that methanol utilization in *P. pastoris* is a subject of retrograde regulation (Rtg-signaling pathway). Our ongoing studies allow to create a coherent picture reflecting the coordinated regulation of the metabolism in *P. pastoris* cells in response to a combination of various environmental factors. This data is of great importance because it allows to optimize cultivation conditions for use of *P. pastoris* in biotechnology. It is also very interesting that methanol metabolism pathway, which is present only in several yeast species, is a subject of such complex and precise regulation. Further investigation will help us to understand the evolution of regulatory systems.

Acknowledgments: this work was done with the support of RFBR grant 18-34-00750.

## КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ МЕТАБОЛИЗМА ПРОКАРИОТ В ПРОСТРАНСТВЕННО-ГЕТЕРОГЕННЫХ СРЕДАХ

Матушкин Ю.Г.<sup>1</sup>, Клименко А.И.<sup>1</sup>, Мустафин З.С.<sup>1</sup>, Лашин С.А.<sup>1,2</sup>,

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090, пр.Лаврентьева 10, <sup>2</sup>Новосибирский Национальный Исследовательский Государственный Университет,

Россия, Новосибирск, 630090, ул.Пирогова 1

[mat@bionet.nsc.ru](mailto:mat@bionet.nsc.ru)

Среди бактерий различных микробных сообществ существуют два противоположных эволюционных тренда – направленных на усложнение и на упрощение метаболизма. Как экосистемные ограничения, так и особенности генных сетей, лежащих в основе соответствующих метаболических процессов, выступают в качестве факторов, определяющих эволюционный исход в сообществе. Численное моделирование показывает, что пространственная организация среды обитания формирует ландшафт давления отбора, опосредуя тем самым эволюционные процессы, происходящие в экосистеме. Исследованы закономерности пространственного подразделения различных эволюционных тенденций в зависимости от близости ячейки к притоку питательных веществ, однако эти закономерности разительно меняются для клеток, способных к активному движению в направлении хемоаттрактанта. Важность миграции для эволюционной успешности актов горизонтального переноса генетического материала хорошо установлена. Миграция обеспечивает стабильный генный приток нужной плотности, позволяющий мутантам набрать критическую биомассу, необходимую для закрепления в сообществе, что позволяет такому редкому событию как горизонтальный перенос определять эволюцию микробного сообщества, преодолевая препятствия, создаваемые жёсткой конкурентной средой уже сложившегося сообщества. Миграции как процесс, препятствующий выражению этой компартментализации, ведут к уменьшению разнообразия сообщества и к экспансии немногих приспособленных популяций, что, однако, не приводит к увеличению общей биомассы сообщества по сравнению с сообществами немобильных организмов. Данный эффект можно объяснить цепным сокращением экологических лицензий в связи со снижением разнообразия и упрощением структуры сообщества. Несмотря на стохастичность процессов генетической изменчивости, происходит устойчивая самоорганизация на уровне паттернов экологических структур. Процессы горизонтального переноса и потери генов в сообществах подвижных прокариот могут приводить к стабильному распределению биомасс экогрупп, отличному от того, которое наблюдается в ходе естественного отбора в сообществе с полным набором комбинаций метаболических систем. Моделирование показало, что экологические паттерны самоорганизации микробных сообществ способствуют поддержанию различных стратегий, лежащих в основе сценариев как усложнения, так и упрощения метаболизма. Различные эволюционные тренды поддерживаются в средах с контрастными условиями, что обуславливается пространственной структурой местообитания.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке бюджетного проекта № 0324-2018-0017.

**Круглый стол: Этические, правовые и социальные аспекты генетических и геномных исследований / Round Table: Ethical, legal and social aspects of genetic and genomic research**

**ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ПРИМЕРЕ КОНСТРУИРОВАНИЯ ПРОМЫШЛЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

Воейкова Т.А., Скороходова А.Ю., Журавлева О.А., Новиков А.Д., Дебабов В.Г.

НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика, Россия, Москва, 1-й Дорожный пр., д.1  
[voeikova.tatyana@yandex.ru](mailto:voeikova.tatyana@yandex.ru)

Промышленная микробиология является одним из разделов биотехнологии и производит огромный спектр продуктов для сельского хозяйства и медицины, а также биотопливо, биоразлагаемые пластики и т.д. В процессах промышленной микробиологии используются генно-модифицированные микроорганизмы (ГММ). В РФ под ГММ подпадают микроорганизмы, созданные с использованием генной инженерии, которая является мощной методологией и обеспечивает экономичность и конкурентоспособность процессов. Однако эта технология встречает настороженность общественности и, в связи с этим, генно-инженерная деятельность всегда регулируется государством. Наиболее развито законодательство и опыт его правоприменения в США и ЕС. В этих странах законодательство направлено на установление разумного баланса между коммерческой выгодой и безопасностью. В США и ЕС под ГММ подпадают микроорганизмы, несущие в своем геноме чужеродные гены, которые микроорганизм не может приобрести естественными путями генетического обмена. В РФ законодательство относительно ГММ носит противоречивый и скорее запретительный характер, что объясняется отсутствием до недавнего времени потребности в практическом использовании ГММ. Единственной областью, для которой достаточно подробно разработаны правила, регулирующие применение ГММ в РФ, является пищевая промышленность. На сегодня обстановка коренным образом изменилась. Перед РФ стоит задача использования избытка зерна для его глубокой переработки и создания на этой сырьевой базе мощной микробиологической промышленности. Первоочередная задача этой промышленности импортозамещение кормовых добавок. Эта промышленная революция невозможна без применения ГММ и, следовательно, необходимо совершенствование правового регулирования применения ГММ промышленного назначения в нашей стране. Законодательство должно включать: формулирование безопасных принципов конструирования штаммов для использования в промышленности; положение о том, что любые модификации генома микроорганизма, не связанные с внесением чужеродных генов, не должны рассматриваться как генно-модифицированные штаммы и быть исключены из объектов регуляции. Это касается редактирования геномов и процессов, связанных с гомологичной рекомбинацией и самоклонинга; список заведомо безопасных штаммов; список запрещенных для клонирования генов; этапы организации правоприменения. «Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-14005 - мк».

## ЗАКОНОДАТЕЛЬНЫЙ ОПЫТ РЕГУЛИРОВАНИЯ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПРИМЕНЕНИЯ ИХ РЕЗУЛЬТАТОВ (НА ПРИМЕРЕ СТРАН ВОСТОЧНОЙ И ЮГО-ВОСТОЧНОЙ АЗИИ)

Трикоз Е.Н.

Московский государственный институт международных отношений МИД России;  
119192, РФ, г. Москва, Проспект Вернадского, д. 76.

[alena\\_trikoz@mail.ru](mailto:alena_trikoz@mail.ru)

Два важнейших международных документа уровня ООН – это *Всеобщая декларация о геноме человека и правах человека*, принятая Генеральной Ассамблеей ЮНЕСКО 11.11.1997, и принятая в ее развитие *Международная декларация о генетических данных человека* от 16.10.2003. Они закрепляют, что геном человека не должен служить средством обогащения, и человек имеет право на возмещение вреда из-за детерминирующего воздействия на его геном. При этом подчеркивается свобода научных исследований по вопросам генома, и предлагается принимать благоприятствующие таким исследованиям меры.

Мы обращаем внимание на неоднозначную практику получения и использования генетических данных в странах Восточной и Южной Азии. Так, в Китайской Народной Республике действует закон о применении репродуктивных технологий, который запрещает использование эмбрионов в коммерческих целях, а проведение генетических исследований строго регламентируется законом о защите здоровья матери и ребенка 1995 г. Они допускаются в пренатальной сфере, за исключением цели определения пола ребенка, например, при обнаружении врачом аномалии плода или подозрении на передачу эмбриону наследственного заболевания. Режим получения разрешения на генетическую диагностику не требуется, его принимает сам врач при наличии лицензии Минздрава КНР на проведение таких генетических исследований.

В Японии службы непрерывной трудовой занятости контролируют сбор генетической информации в рамках трудоустройства, с целью того чтобы генетически здоровые сотрудники оставались на рабочем месте вплоть до пенсионного возраста (обычно в 60 лет). Пренатальная генетическая диагностика регулируются в Японии не законодательством, а профессиональными инструкциями (например, «Инструкцией по проведению генетического тестирования»). В частности, закрепляется такой критерий инвазивной пренатальной диагностики, как риск передачи плоду тяжелого генетического заболевания, но в любом случае требуется индивидуальное разрешение «Японского общества акушерства и гинекологии» и наличие показаний (наличие у родителей тяжелого аутосомно доминантного заболевания, хромосомной патологии, и др.) [1].

Наиболее строгий законодательный режим генетически-диагностических исследований установлен в Индии, где строго запрещена преимплантационная диагностика (кроме рисков тяжелых генных и хромосомных нарушений), а в рамках пренатальной диагностики запрещена селекция пола или обеспечение супружеской пары ребенком мужского пола, с целью «предотвратить *фетицид* плодов женского пола». Менее строго регламентируется в специальных инструкциях пренатальная диагностика для выявления генетических, метаболических и хромосомных заболеваний плода, а также целый список показаний в анамнезе беременной женщины.

*Южная Корея*

Закон «О биоэтике и биобезопасности» Южной Кореи регулирует использование всех биотехнологий, без специальных оговорок относительно ПГД и ПНД [28]. Однако, согласно этому закону, исследование эмбриона или плода может быть осуществлено только для диагностики мышечной дистрофии или другого, связанного с повреждением ДНК, заболевания. Закон запрещает селекцию пола и, так же, как и в Китае, получение персональной выгоды (как материальной, так и нематериальной) в обмен на донацию

сперматозоидов или яйцеклеток. Кроме того, неиспользованные после цикла ЭКО эмбрионы возможно хранить до 5 лет, после чего они могут быть использованы для исследований по разработке новых методов контрацепции, лечения бесплодия и терапии редких и неизлечимых заболеваний.

*Сингапур*

Согласно Директиве министерства здравоохранения Сингапура, ВРТ запрещены для немедицинских целей и могут применяться только для лечения супружеских пар<sup>[29]</sup>. Кроме того, запрещены любые методы сортировки спермы, применяемые для селекции пола, как и проведение ПГД с этой целью. Согласно Совету по биоэтике Сингапура, применение ПГД должно быть ограничено только предотвращением рождения детей с тяжелыми наследственными заболеваниями. Любые исследования, касающиеся человеческих эмбрионов должны сперва быть одобрены в министерстве здравоохранения Сингапура.

[1] Чоговадзе А.Г. Особенности законодательного регулирования преимплантационной и пренатальной генетической диагностики в различных странах // Гены & Клетки. 2012. Том VII, №2. С. 112-118.

## ПРАВОВАЯ РЕГЛАМЕНТАЦИЯ БИОЭТИЧЕСКИХ И ГЕНОМНЫХ АСПЕКТОВ В СТРАНАХ ИБЕРОАМЕРИКАНСКОГО РЕГИОНА

Гуляева Е.Е.

*к.ю.н., доцент кафедры международного права Дипломатической академии МИД РФ*

В эпоху бурного прогресса биомедицины и биотехнологий юридические гарантии неприкосновенности человеческой личности и защиты прав пациентов закреплены в специальной Конвенции Совета Европы о защите прав и достоинства человека в связи с применением достижений биологии и медицины (ETS №164) 1997 г. (далее – «*Конвенция Овьедо*»). В их числе принципы обеспечение биобезопасности и добровольного информированного согласия на любые манипуляции с генетическим материалом человека, в том числе с медицинскими и исследовательскими целями. Гарантии соблюдения прав и основных свобод человека и обеспечения свободы исследований были сбалансированы во Всеобщей Декларации ЮНЕСКО о геноме человека и правах человека 1997 г. Этот документ пошел даже дальше «*Конвенции Овьедо*», подчеркивая, что личность человека не может сводиться к его генетическим характеристикам, и требуя непреложного уважения его уникальности и неповторимости. В XXI веке каждый человек имеет фундаментальное право на уважение своего достоинства и субъективных прав независимо от генетических характеристик, и право на защиту собственных генетических данных. Оба принципа конфиденциальности и недискриминации по признаку генетического наследия закреплены в статьях 6 и 7 Декларации о геноме.

Сегодня право на сохранение жизни и здоровья человека включает в себя защиту его генома (набора всех генов) и генома наследников данного человека, в целях сохранения генетического здоровья человека и его потомков. Наиболее деликатной в юридико-этическом плане является область генотерапии и геномики, генетического консультирования и генетического тестирования. Его результаты могут использоваться как в репродуктивной сфере, так и в онкогенетике, в целях выявления наследственных форм рака (например, рака молочной железы).

В представленном докладе будет дан анализ правовой регламентации биоэтических и геномных аспектов в странах Ибероамериканского региона и указаны возможные преимущества модели использования ибероамериканского опыта для России.

## **ФИЛОСОФСКИЙ АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ ТЕНДЕНЦИЙ ЭТИКО-ПРАВОВОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ГЕНЕТИКИ КАК НАУКИ И ПРАКТИКИ**

Тищенко П. Д.

Предлагается эксплицировать содержание концепции социогуманитарного обеспечения биомедицинских инноваций применительно к полю специфических проблем генетики как науки и практики. Одна из основных трудностей отечественной науки, включая генетику, состоит в плохо развитых связях (разрыве) между учёными, производящими новые знания, открытия и изобретения и обществом. Природа этого разрыва многообразна. Одна из существенных причин разрыва заключается в устаревшем самопонимания учёными смысла своей деятельности. То новое, что упускается отечественными исследователями и администраторами в содержании научной деятельности, заключено в понятии инновации. Инновации – это знания, открытия и изобретения, которые доведены до формы общественно полезных (востребованных) продуктов – товаров, биотехнологий, медицинских и сельскохозяйственных технологий, междисциплинарных исследовательских ресурсов, криминалистических средств и т.д. Традиционные технологии «внедрения» результатов научной деятельности малоэффективны, хотя на данном этапе ими не следует пренебрегать. Необходимо систематическое использование социогуманитарных технологий для обеспечения общественной востребованности научных (генетических) результатов. На примере казуса (case'a) создания и деятельности биотехнологической компании Mugiad Genetics предполагается эксплицировать такие понятия как социогуманитарное обеспечение инноватики, “soft and hard power”, дать разъяснение основной тенденции этико-правового обеспечения генетики, заключающейся не во внешнем регулировании (контроле со стороны государства), а в фасилитации кооперации между наукой и обществом. Будут отмечены не только позитивные, но и негативные аспекты инноватики.

Публикация подготовлена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-29-14100

## ЭТИЧЕСКИЕ И СОЦИАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Боринская С.А.

*Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, Россия, 119991, Москва, ул. Губкина 3  
borinskaya@vigg.ru*

Программа «Этические, правовые и социальные аспекты» в приложении к геномным исследованиям была инициирована в 1990 г. и явилась интегральной частью проекта по исследованию генома человека. Всемирная организация по исследованию генома человека (HUGO) имеет комитет по этическим, правовым и социальным аспектам (Committee on Ethics, Law and Society, CELS) [1]. Как и другие подобные комитеты, комитет CELS инициирует обсуждения этих аспектов, включая вопросы чисто научные (генетическое разнообразие популяций человека, разработку новых направлений и методов исследований), так и имеющие практическое применение в медицине и иных видах деятельности, включая вопросы конфиденциальности индивидуальных данных, прав и безопасности участников исследований и проводящих эти исследования специалистов, создания биобанков, прав интеллектуальной собственности на научные результаты и разрабатываемые методы и технологии на основе геномных данных и других вопросов с представителями различных кругов общественности. Такая деятельность помогает установить понимание вопросов между научным и медицинским сообществом, политиками, системой образования и широкой публикой. Важным аспектом такой деятельности является представление различных кругов о целях, безопасности и потенциальной и уже реализованной пользе геномных исследованиях. Это касается не только генома человека, но и геномных исследований других организмов, в первую очередь хозяйственно важных, и разработок на их основе новых технологий. Возможность применения этих технологий может быть поддержана или ограничена обществом в различных видах, от выражения публичных опасений и неодобрения до законодательных ограничений. В докладе будут приведены данные социологических исследований и опросов, включая собственные данные, об информированности населения в отношении возможностей и безопасности геномных технологий. В заключении будет обоснована целесообразность создания комиссии по информированию публики о генетических и геномных исследованиях и технологиях при ВОГИС.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-29-14100 «Состояние и перспективы правового регулирования и саморегулирования геномных исследований: национальный, зарубежный и международный опыт».

[1] <http://www.hugo-international.org/HUGO-CELS>

## НОРМАТИВНЫЕ ТЕОРИИ СПРАВЕДЛИВОСТИ И ПРАВОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИКИ

Шевченко С.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт философии РАН, Россия, Москва, ул. Гончарная, д. 12, стр. 1; <sup>2</sup>РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1

[simurg87@list.ru](mailto:simurg87@list.ru)

Нормативные теории справедливости, разработанные в 1970-е годы Дж. Ролзом и Р. Дворкиным, до сих пор являются отправной точкой большинства дискуссий, касающихся социальных эффектов применения новых биомедицинских технологий. Со времен реализации проекта «Геном человека» теория справедливости Ролза считается одним из важных источников формулировки этико-правовых регулятивов развития и применения генетических технологий [1].

По Ролзу, наивысшим приоритетом обладает принцип наибольшей выгоды для наименее преуспевающих. Таким образом, Ролз предлагал нивелировать влияние на благополучие человека случайных факторов, имеющих либо социальную природу (например, происхождение из богатой семьи), либо естественную (большие или меньшие врожденные способности). Таким образом, концептуальная схема предполагала, что для человека как социального агента его биологические (в первую очередь, генетические) особенности мыслятся как внешние наряду с социальными факторами. С другой стороны, компенсация любых неравенств, в том числе обусловленных генетически, возможна только через перераспределение социальных благ. В рамках дискуссий о этико-правовых регулятивов развития генетических технологий предлагалось привести концептуальную схему Ролза к логически законченному виду через формулировку принципа биологической выгоды наименее (биологически) преуспевающим. То есть в целях развития генетических технологий должно стать уменьшение неравенства, обусловленного естественными факторами [2]. Данные регулятивы касались в основном результатов развития геномной инженерии. При этом не остается неясным, как с точки зрения нормативных теорий справедливости должны регулироваться сбор данных в рамках популяционно-генетических исследований; цели и ценности, лежащие в основе проведения таких исследований и публикации их результатов.

Вероятно, такие регулятивы должны быть сформулированы с использованием другой концептуальной схемы, построенной вокруг возможности интериоризации индивидом результатов «естественной лотереи». Соответственно возникает задача разработки принципов строгой классификации генетических исследований, и соответствующих им концептуальных схем формулировки этико-правовых регулятивов. Основным ориентиром в такой работе может служить предложенное в Хельсинской декларации ВМА различение исследований, проводимых с сугубо научными целями, и исследованиями, имеющими терапевтический компонент.

[1]. Resnik D. B., Genetic Engineering and Social Justice: A Rawlsian Approach // 1997. Social Theory and Practice Vol. 23, No. 3, pp. 427-448.

[2]. Feeney O. Equality of whom? a genetic perspective on equality (of opportunity) // 2006. Res Publica. Vol. 12, Iss. 4, pp 357-383

**Благодарности:** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-29-14100.

## ПРАВОВОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ ВОПРОСОВ БИОЭТИКИ ВО ФРАНЦИИ: ОПЫТ ДЛЯ РОССИИ

Захарова М. В.

8 февраля 2018 года на Совете по науке и образованию Президент РФ Владимир Владимирович Путин дал поручение организовать масштабные геномные исследования в нашей стране. «Отечественные ученые сделали значительный шаг вперед в относительно новых междисциплинарных областях, таких как наука о жизни, где исследования ведутся на стыке биологии, химии, генетики, медицины, биоинформатики, физики», — сказал глава государства.

Интенсифицировано проведение геномных исследований и за рубежом. Одним из масштабных проектов в данной связи следует признать международный проект «Геном человека». При этом сталкиваясь при проведении геномных исследований с общими и пока не конца познанными вызовами внешней среды, Россия и другие участники международного гуманитарного общения заинтересованы в формировании сбалансированной социальной политики в указанной сфере.

Одной из зон международного сотрудничества при проведении геномных исследований могут и должны стать вопросы биоэтики. В представленном докладе будет дан критический анализ правовой модели регулирования биоэтики во Франции и указаны возможные преемственные модели использования французского опыта для отечественной правовой системы.

## БИОЭТИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА: ПРОБЛЕМЫ ЮРИДИЧЕСКОЙ ИНТЕРПРЕТАЦИИ

Лапаева В. В.

*д.ю.н., главный научный сотрудник Института государства и права РАН  
lapaeva07@mail.ru*

Важнейшей задачей правового обеспечения исследований генома человека является создание наднационального правового пространства, в котором основные биоэтические принципы получили бы надлежащую юридическую интерпретацию и конкретизацию. На международном уровне отношения в данной области регламентируются комплексом документов, положения которых, как правило, не носят юридически обязательного характера. Исключение составляет Конвенция о защите прав и достоинства человека в связи с применением достижений биологии и медицины. Анализ показывает, что из всех принципов биоэтики, заложенных в основу этого нормативно-правового документа («не навреди», принцип автономии личности, принцип справедливости и «делай благо»), лишь последний не получил адекватной юридической интерпретации. Во всяком случае, выражающая данный принцип формулировка ст.2 Конвенции, согласно которой «интересы и благо отдельного человека превалируют над интересами общества или науки», вызывает ряд возражений.

Замена категории «право» на категорию «интерес» в нормативно-правовом акте о защите прав человека не соответствует пониманию права как итога согласования правообразующих интересов. Не ясно и смысловое наполнение понятия «благо»: имеется ли в виду лишь здоровье человека или речь идет о гораздо более широком каталоге благ, охватываемых понятием «достоинство человека»? Таким образом, формулировка ст.2 Конвенции создает проблемы для ее последующей юридической интерпретации в национальном законодательстве.

Вместе с тем данная формулировка не случайна: в ней нашла выражение интенция Конвенции на защиту блага нынешних и грядущих поколений от негативного воздействия геномной инженерии на развитие человечества как биологического вида и социальной общности. Этот заявленный в Преамбуле Конвенции регулятивный потенциал пока что не реализован. В настоящее время поиск соответствующих гарантий идет, скорее, в плоскости общественной морали, корпоративной морали медико-биологического сообщества и индивидуальной морали исследователей. Однако решение этой сложнейшей проблемы невозможно без оптимального баланса правовых и моральных регуляторов.

Статья подготовлена при поддержке РФФИ, проект № 18-29-14009.

## СОЦИАЛЬНОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА

Халтурин А.Н.

Санкт-Петербургский медико-социальный институт,  
Россия, Санкт-Петербург, Кондратьевский проспект д. 72 литера «А»  
[aonhalturin@gmail.com](mailto:aonhalturin@gmail.com)

Биоэтика является сегодня одним из наиболее обсуждаемых дискурсов о будущем человека как биологического вида. Клаус Шваб уверен, что инновации в биологической сфере, в частности в генетике, детерминировали развитие таких областей как генетическое секвенирование, синтетическая биология, онкология, биологическая инженерия, 3D-производство или «биопечать», ксенотрансплантация, трансплантационные технологии. «Фактически наука развивается такими темпами, - утверждает К. Шваб, - что на пути прогресса встают уже не технические, а юридические, нормативные и этические ограничения». [1]

Этические традиции направляют общественные дискуссии в направлении поиска конкретных рекомендаций по нравственной приемлемости научно-технологического вмешательства в генетическую природу человека. Как отмечал Ю. Хабермас, «моральная допустимость вмешательств в генные структуры потенциальных членов нашего морального сообщества определяется той позицией, при которой эти вмешательства признаются оправданными». [2]

Диссертационные и монографические исследования позволяют сформулировать социально-философскую парадигму социального регулирования как совокупность механизмов государственного и общественного регулирования.

Дискуссионным в российской науке остается вопрос о создании и функционировании этических комитетов. Американская модель закладывает государственный базис под всю систему регулирующей деятельности этических комитетов. Европейская модель, наоборот, основывается на общественном характере деятельности комитетов по этике.

Для формирования российской системы институционального регулирования на современном этапе наиболее эффективной, по нашему мнению, следует признать идею *общественно-государственной модели*. Во-первых, эта модель базируется на основополагающих ценностях научного, правового, нравственного и религиозного сознания. Во-вторых, именно в формате этой модели при решении нравственных проблем научных исследований на человеке, в том числе генетических и геномных, достаточно эффективно могут быть интегрированы государственные интересы достижения всеобщего блага и узко корпоративные потребности профессиональных медицинских сообществ.

Список литературы

[1] Шваб К. Четвертая промышленная революция / К. Шваб - «Эксмо», 2016. С. 22

[2] Хабермас Ю. Будущее человеческой природы. Пер. с нем. - М.: Издательство «Весь Мир», 2002. С.55

**Круглый стол: Генетическое образование / Round Table: Genetic Education****НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ. ПАРАДИГМА И ПАРАДОКСЫ.**

Инге-Вечтомов С.Г.

СПб филиал ИОГен РАН, кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ.

Россия. СПб, Университетская наб. 7/9

[ingevechtomov@gmail.com](mailto:ingevechtomov@gmail.com)

Социальная сущность *Homo sapiens* – человека разумного, основанная на передаче опыта между поколениями, сыграла решающую роль в ускорении его эволюции. В связи с этим, хорошо ли мы понимаем, как и чему нужно учить наших студентов, чтобы они становились умнее нас? Что общего между добыванием новых знаний и процессом обучения, в частности, в университетах? Ответить на поставленные вопросы поможет эпистемология – гуманитарная дисциплина, которая исследует научное знание, его структуру, функционирование и развитие. Представление о структуре научного метода должно лежать в основе, как любого исследования, так и преподавания любой научной дисциплины. Гуманитарная составляющая вообще плохо представлена в учебных планах естественнонаучных дисциплин. История развития и эволюция преподаваемой дисциплины должна быть представлена в учебном процессе. Всякое образование есть процесс парадигмальный, т. е. осуществляемый в рамках существующей парадигмы, или системы общепринятых представлений. Понятие научной парадигмы ввел Т.Кун в своем труде «Структура научных революций» (Kuhn, 1962; Кун, 1975). Во всякой преподаваемой дисциплине необходимо показывать исторический процесс эволюции парадигмы, точнее, смены и преемственности парадигм. Т.Кун показал, что изменению парадигмы предшествует появление «аномалий» (лучше – парадоксов), которые не укладываются в существующую парадигму. Особое значение имеет демонстрация таких парадоксов, возникающих в рамках существующей парадигмы. Легко показать, общую тенденцию смены парадигмы в развитии генетики: от абстрактных менделевских факторов к генам в виде нуклеотидных последовательностей ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислоты). Привлекая внимание студентов к парадоксам, вы показываете им путь к открытиям, возможно, показываете «дорогу к славе», но отнюдь не к спокойной жизни. Такой подход позволяет разрабатывать и поддерживать систему (генетического) образования - набор курсов, их последовательность, позволяет определять перспективу развития нашей науки.

А, если мы искренне хотим чтобы «они стали умнее нас», то это подразумевает еще и некоторые взаимные моральные обязательства между учителем и учениками. Это, прежде всего, взаимное доверие и отсутствие ревности со стороны учителя по отношению к ученикам, которые становятся умнее учителя.

## ПРЕПОДАВАНИЕ ГЕНЕТИКИ: ОТ КЛАССИЧЕСКИХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ К КОМПЛЕКСНОМУ ОПИСАНИЮ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Рувинский А.О.

*Университет Новой Англии, Австралия, Армидэйл, Элм Авеню 1.*

*aruvinsk@gmail.com*

Классическое описание генетических процессов возникшее к середине 20 века, оставаясь фундаментом современной генетики, значительно углубилось и претерпело многочисленные изменения за последние десятилетия. Изучение разных уровней организации генетических систем может вести к возникновению новых парадигм, усложнению существующих, а также к замене старых. Попытки обнаружения законов распространяющихся на всё живое сталкиваются с колоссальным разнообразием. Только два обобщения касаются всех форм живого и оба описаны Дарвином. Это, как известно, наследственная изменчивость и естественный отбор. Любые другие генерализации ограничены определёнными формами или явлениями жизни.

Изменчивость пронизывает все уровни организации генетических систем. Одним из её источников служат случайные флуктуации физических и химических процессов, как например при спонтанных заменах нуклеотидов. Другой источник связан со сложностью взаимодействий компонентов биологических систем так же как и колебаниями окружающей среды на уровень генной экспрессии, формирование фенотипа и популяционные процессы. Третий источник можно обозначить как биологически организованную случайность. Он возникает в ходе эволюции и генерирует практически неисчерпаемое разнообразие. В эту категорию попадают такие разные явления как хромосомная сегрегация и мейотическая рекомбинация у эукариот, инактивация X хромосомы у самок млекопитающих, организованная рекомбинация генов иммуноглобулинов у позвоночных, альтернативный сплайсинг у эукариот и т.д. Представляется что более сложные формы жизни генерируют возрастающий объём генетической изменчивости.

Усложнение классической парадигмы удобно рассмотреть на примере менделевской сегрегации, обычно ведущей к равновероятному распределению альтернативных аллелей. Описание генетических явлений резко повышающих вероятность попадания одного из аллелей в следующее поколение за счёт альтернативного не привело к замене парадигмы, а скорее к углублению понимания причин равновероятной сегрегации. Обнаружение экзон-интронной структуры у большинства эукариотических генов тоже можно было бы рассматривать как усложнение парадигмы. Однако, открытие альтернативного сплайсинга, как широко распространённого явления, делает классическое утверждение “один ген - один фермент” устаревшим. Обновление парадигмы объясняющей формирование фенотипа также необходимо вследствие изучения генетического импринтинга и других факторов.

## ПРОБЛЕМЫ ПРЕПОДАВАНИЯ ОСНОВ ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ СТРЕМИТЕЛЬНОГО НАКОПЛЕНИЯ НОВЫХ ДАННЫХ О СТРУКТУРЕ, ФУНКЦИИ И ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМА ПРО- И ЭУКАРИОТ

Рубцов Н.Б.

*Новосибирский государственный университет, факультет естественных наук, кафедра цитологии и генетики, Россия, г. Новосибирск, 630090, Новосибирская область, г. Новосибирск, ул. Пирогова, д. 1.*

*rubt@bionet.nsc.ru*

Появление и развитие новых методов анализа биологических объектов привели к быстрому накоплению нового фактического материала и началу формирования новых концепций структурно-функциональной организации и эволюции биологических объектов, выяснению механизмов, регулирующих клеточные процессы, онтогенез, старение. Стремительное развитие клеточной биологии, генетики, геномики, биологии развития и других близких направлений биологической науки остро поставило вопрос об актуализации соответствующих курсов, читаемых в высшей школе. Наиболее часто проблема подготовки специалистов решается либо включением в существующую программу дополнительных курсов лекций и практических занятий, либо созданием новой обучающей программы. При формировании новых образовательных программ приходится регулярно решать задачи совмещения преподавания базовой классической информации и результатов, полученных в соответствующих областях науки в последние годы. Соблюдение баланса «классики» и последних достижений в большинстве высших учебных заведений дается с большим трудом и во многом зависит от преподавательского коллектива. При наличии большой преподавательской нагрузки предпочтение обычно отдается «классике» при замедленном обновлении курсов. В случае привлечения к преподаванию сотрудников исследовательских институтов большее внимание уделяется последним достижениям часто в довольно узких направлениях биологии, нередко с ущербом в освоении студентами основных положений. Опыт преподавания клеточной биологии и генетики в НГУ выявил несколько важных направлений организации образовательного процесса: регулярное обновление базовых курсов, позволяющее наряду с сохранением преподавания основ соответствующей науки включать элементы, обеспечивающие успешное восприятие последующих специальных курсов; создание новых спецкурсов; проведение регулярной методической работы по согласованию курсов лекций; включение в программу курсов по выбору, позволяющих достаточно рано специализироваться в конкретной области; обучение студентов работе с современной научной литературой, и выработке у них соответствующих навыков; обязательное введение в программу лекций типа «Актуальные вопросы ...»; организации публичных лекций по наиболее интересным вопросам, читаемых как ведущими так и молодыми учеными. Критически важным является обучение самостоятельной работе как с литературой, так и в лаборатории, прививанию к ней вкуса, обеспечению возможностями такой самостоятельно работы и помощью в выборе ее направления.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗНАНИЯ В КЛИНИЧЕСКОМ МЫШЛЕНИИ

Пузырев В.П.<sup>1,2</sup>, Салюкова О.А.<sup>1,2</sup>, Яковлева Ю.О.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Россия, Томск, 634050 г. Томск, ул. Наб. реки Ушайки, д. 10; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск  
[p.valery@medgenetics.ru](mailto:p.valery@medgenetics.ru)

1. Возрастающее значение генетических знаний в общей патологии человека отражается в намечающейся дифференциации – «медицинская генетика» и «генетическая медицина». Первая включает около 5 тыс. менделевских и хромосомных назологий и синдромов и составляет предмет преподавания на кафедрах медицинской генетики. Другая - более 50 тыс. форм патологии многофакторной природы (болезни с наследственной предрасположенностью), патогенетика которых излагается также на многочисленных клинических кафедрах и курсах. Общее и особенное в выборе дидактических приемов изложения материала определяется искусством преподавателя, регламентом программы предмета, оснащенностью базы обучения.

2. В медицинской практике присутствует ситуация, в которой оказывается врач, – как, не зная всех болезней, поставить единственный верный диагноз? Путь от абстрактного мышления к клиническому диагнозу, логическая схема формирования диагноза основывается на дифференциальном диагнозе (наряду с диагнозом по аналогии и поиском патогномического признака) [1]. На этапе формирования гипотезы наследственной болезни представляется важным разъяснение принципов клинической генетики Давиденкова-Маккьюсика (плейотропизм, генетическая гетерогенность, клинический полиморфизм) [2].

3. Знакомство студентов и врачей с геномными технологиями в диагностике наследственной компоненты болезней одна из сложных задач в генетическом образовании медиков и лимитируется отведенным для этого в программе временем («часами»). Имеются некоторые предложения и опыт зарубежных коллег [3].

4. Обсуждаются попытки «радикальной» смены формата обучения: «когнитивный иммунитет» vs ментальное насилие; клиповое мышление vs понятийное мышление; онлайн курсы vs диалоговые отношения; фундаментальность образования vs «компетенции».

[1]. Казначеев В.П., Куимов А.Д. Клинический диагноз. // 1992, Новосибирск: изд-во Нов. мед. ун-та. – 96с.

[2]. Пузырев В.П. Медицинская патогенетика. // 2014, Вавиловский журнал генетики и селекции, Т.18, с.7-15.

[3]. Wright C.F. et al., Paediatric genomics: diagnosing rare disease in children. // 2018, Nat. Rev. Genet., V.19, P.253-268.

## ШКОЛА ПО АГРОБИОЛОГИИ И ГЕНЕТИКЕ РАСТЕНИЙ В ОЦ «СИРИУС»: ОПЫТ ПРОВЕДЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Матвеева Т.В.

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9;

[radishlet@gmail.com](mailto:radishlet@gmail.com)

Образовательный центр «Сириус» в городе Сочи создан Образовательным Фондом «Талант и успех» на базе олимпийской инфраструктуры по инициативе Президента Российской Федерации В.В. Путина 24 декабря 2014 г. Центр осуществляет образовательную деятельность по трем направлениям: «Наука», «Спорт» и «Искусство». Отбор кандидатов на посещение ОЦ осуществляется на конкурсной основе среди детей со всех регионов России.

В рамках направления «Наука» с 15 сентября по 7 октября 2018 года в ОЦ «Сириус» нами была проведена Школа по агробиологии и генетике растений для учеников старших классов. Целью школы было ознакомление старшеклассников с современными тенденциями развития агробиотехнологий, формирование у школьников базовых навыков проведения научного эксперимента и интерпретации его результатов, знакомство школьников с некоторыми направлениями исследований и с преподавателями кафедры генетики и биотехнологии, а также учеными из других научных и образовательных организаций, участвовавшими в подготовке Школы.

Образовательная программа Школы была разделена на три блока. Первый включал в себя теоретические занятия по генетике и селекции растений (с элементами геномики), транскриптомике, метаболомике, биотехнологии растений (с элементами генной инженерии), экологии растений. В программу второго блока вошли практические занятия, направленные на освоение некоторых методов генетики и биотехнологии растений, а в рамках третьего блока школьники проводили самостоятельную исследовательскую работу. Наиболее интересные проекты, выполненные школьниками, представлены на VII съезде ВОГИС в виде стендовых докладов, посвященных использованию ДНК маркеров для поиска аллелей, определяющих устойчивость картофеля к болезням, разработке молекулярного маркера краснотерности риса, поиску новых мутаций симбиотических генов гороха, разработке векторов для редактирования генома люцерны.

Проведенные исследования важны для развития различных направлений агробиологии растений. Школьники получили реальные научные результаты, а главное, увидели изнутри, как делается наука. Некоторые участники Школы продолжают взаимодействовать с преподавателями кафедры генетики и мечтают поступить в СПбГУ.

Проведение подобных школ планируется и далее для привлечения в науку талантливой молодежи.

**Круглый стол: История генетики / Round Table: The History of Genetics**  
**ПРЕЗЕНТАЦИЯ КНИГИ ФОКИНА С.И. И ЗАХАРОВА-ГЕЗЕХУСА И.А.**  
**«ЮРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ ФИЛИПЧЕНКО И ЕГО ОКРУЖЕНИЕ. К**  
**100-ЛЕТИЮ ОСНОВАНИЯ КАФЕДРЫ ГЕНЕТИКИ И**  
**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЗООЛОГИИ В ПЕТРОГРАДСКОМ**  
**УНИВЕРСИТЕТЕ»**

Захаров-Гезехус И.А.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Россия, Москва, Губкина, 3.*

*iaz34@mail.ru*

В книге представлены истории жизни и профессиональной деятельности биологов, причастных к организации и становлению в Петроградском университете кафедры генетики и экспериментальной зоологии — первой в российских университетах кафедры подобного типа, основанной в 1919 году. 10 глав книги посвящены основателю и руководителю этой кафедры Ю.А. Филипченко и его ближайшим сотрудникам и соратникам — И.И.Соколову, В.М.Исаеву, Д.М.Дьяконову, Я.Я.Лусу, Ф.Г.Добржанскому и А.В.Владимирскому, активно участвовавшим в организации и работе кафедры в 1920–1930-е годы, а также судьбе младшего брата Ю.А.Филипченко — А.А.Филипченко — медицинского доктора и паразитолога и учителя Ю.А.Филипченко - известного протозоолога и деятеля высшего образования профессора В.Т.Шевяков. В Приложении приводятся выписки из дневника Ю.А.Филипченко (1918–1923), его письма 1906–1930 годов. Публикуется также дневниковые записи Ф.Г.Добржанского, которые он вел в экспедиции в Казахстане (1926). В книге содержится значительное количество фотографий (1885–1982), связанных с героями книги и образованной в 1919 году кафедрой. Книга рассчитана на широкий круг читателей, интересующихся историей естествознания и биографиями отечественных генетиков начала XX вв.

## ПРЕДСТАВЛЕНИЕ КНИГИ «ГЕНЕТИКА ВЧЕРА И СЕГОДНЯ. К 100-ЛЕТИЮ КАФЕДРЫ ГЕНЕТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ СПБГУ»

Инге-Вечтомов С.Г.

*СПб филиал ИОГен РАН, кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ.*

*Россия. СПб, Университетская наб. 7/9*

*[ingevechtomov@gmail.com](mailto:ingevechtomov@gmail.com)*

Наряду с материалами, посвященными организации первой отечественной кафедры генетики Ю.А.Филипченко и ее роли в возрождении генетики в нашей стране после периода лысенковщины (первые две главы), в книге представлены научные направления, которые получили развитие преимущественно после возвращения в Университет М.Е.Лобашева в качестве заведующего кафедрой генетики и селекции (1957-1971). Далее показано развитие двух основных современных научно-учебных и взаимно дополняющих направлений кафедры – развитие матричного принципа и экологической генетики. Их объединяет общая проблема, разрабатываемая кафедрой «Механизмы интеграции генетических процессов».

Представлена ретроспектива исследований по частной генетике растений и создание генетических коллекций растений (Войлоков и др.), а также современные исследования по клеточной и молекулярной генетике растений (Лутова и др.). Показаны исследования по генетике животных, преимущественно в аспекте системного контроля генетических процессов, инициированные еще М.Е.Лобашевым и продолженные его учениками (Даев; Мамон и др; Иовлева). Организация лаборатории генетики микроорганизмов (Чекунова) позволила перейти к молекулярно-генетическим исследованиям – прежде всего при изучении генетического контроля трансляции (Инге-Вечтомов; Миронова; Журавлева), а на рубеже XXI века активно включиться в работы по т.н. белковой наследственности на примере прионов дрожжей (Чернов). Активные исследования по биохимической генетике легли в основу работ в области молекулярной биотехнологии, получения микробных и растительных продуцентов биологически активных соединений (Падкина и др.). Работы по экологической генетике кафедра проводила, как на модельных объектах, например, в системе «дрожжи-дрозофила», а далее в системе «высшие растения-почвенные микроорганизмы» (Тихонович). Последнее стало возможным благодаря организации Научно-образовательного центра «Молекулярно-биологические основы здоровья человека и окружающей среды С-З РФ», также как и работы по некоторым направлениям медицинской генетики (Баранов, Кузнецова).

## ПОЧЕМУ СЕЛЕКЦИОНЕРЫ РАСТЕНИЙ ПРИНЕСЛИ МЕНДЕЛИЗМ В РОССИЮ?

Гончаров Н.П.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090. пр. Лаврентьева, д. 10  
gonch@bionet.nsc.ru*

Насколько генетика была «экзотична» для агрономического сообщества России – вопрос в достаточной степени не исследованный. Д.Н. Прянишников, классифицируя науки по отношению к агрономии, уже в 1906 г. полагал, что генетика вместе с морфологией призвана изучать физиологию размножения (генезис форм) и способы воздействия на растения (приемы ухода и селекции). С.И. Жегалов в 1911 г. выпускает работу «Менделизм в современном освещении», доложенную им в МСХИ 26 октября 1911 г. на заседании «Кружка любителей естествознания». В другой работе «Значение селекции в современной агрономии» он уже рассматривает возможности ее применения в селекции, а именно способность «создавать самые причудливые комбинации родительских признаков у потомства» [1, с. 9]. Чуть позже, в 1912/13 учебном году, приват-доцент Имп. Новороссийского университета (Одесса) А.А. Сапегин начал читать первый в России курс лекций по генетике применительно к селекции «Законы наследственности и методика отбора сельскохозяйственных растений» на естественном отделении физико-математического факультета. И только год спустя курс по генетике начнет читать зоолог Ю.А. Филипченко в Петроградском университете.

Другим центром «внедрения» менделизма среди растениеводов было Бюро по прикладной ботанике УК ГУЗиЗ. К.А. Фляксбергер сделал один из первых переводов классической работы Менделя, опубликованной Р.Э. Регелем в «Трудах по прикладной ботанике» [2].

В докладе будет предпринята попытка проанализировать вопрос - почему именно селекционеры растений принесли менделизм в Россию.

[1]. Жегалов С.И., Значение селекции в современной агрономии // 1912, В помощь хозяину. №2, С.8–9.

[2]. Мендель Г., Опыты над растительными гибридами / пер. и вступ. очерк К.А. Фляксбергера // 1910, Тр. Бюро по прикл. ботанике, Вып.11, С.482–529.

## 5-Й МЕЖДУНАРОДНЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНГРЕСС ГЛАЗАМИ Ю.А. ФИЛИПЧЕНКО.

Авруцкая Т.Б

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки*

*Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Россия, Москва, Губкина, 3.  
tata221151@mail.ru*

5-й Международный генетический конгресс после долгого перерыва был организован в 1927 г. в Берлине. Делегация из СССР – 50 ученых, по числу участников уступала только США и Германии. Предыдущий конгресс проходил во Франции еще до 1-ой мировой войны и «там не было не одного русского!». Одним из участников был генетик Ю. А. Филипченко, организатор первой в стране кафедры генетики и экспериментальной зоологии. Мы имеем редкостную возможность взглянуть на события тех лет глазами ученого. Такие живые свидетельства особо ценны, если автор не просто очевидец, но активный их участник. Письма Ю.А.из Берлина[1] предназначались его супруге Надежде Павловне, которая была в курсе его профессиональных интересов, знала не только коллег мужа, но и была знакома с иностранными учеными. До начала съезда Филипченко «вступил на путь покупок в первоклассных магазинах», т.к. сильно пообносившаяся профессура была в сложном положении. «Открытие было очень парадным. Однако речи официальных лиц мне не понравились. Научная речь об эволюции, которую поручили читать главному немецкому ботанику Веттштейну, была также очень слаба». Программа конгресса была насыщена: «словом, с вечера(11.09) до вечера субботы, когда будет торжественный ужин во фраках, я попадаю в каторжную работу». Из пленарных докладов Ю.А. отметил «превосходный» Гольдшмита, похуже Розенберга и Федерлея. На другой день, «самый интересный – Меллер, от которого Феодосий Григорьевич обмер бы от удовольствия»; из секционных докладов – «превосходное выступление Сапегина». Своим докладом Ю.А. остался недоволен: «Времени было дано мало. Вообще эти мелкие секционные доклады имеют на таких съездах мало смысла, тем более что прений после них не бывает обычно и пропадает всякий смысл их делать». Большое впечатление на ученого произвело "открытие нового Kaiser Wilhelm Inst. für Anthropologie und Eugenik. Там было около 100 человек, наиболее солидной публики и евгенистов. Директором этого института будет Фишер». В письмах Филипченко отметил – знакомство с Дэвенпортом, Персивалем, Меллером, Зелени и Гексли, осмотр пшениц Wenzel'я близ Halle, посещение свиноводческого хозяйства, экскурсия в Потсдам, Сан-Суси, посещение оперы Тристан и Изольда. Интересно, что собравшиеся в конце конгресса Вавилов, Кольцов и Филипченко во время обеда устроили «собственно заседание комитета, нашего будущего русского генетического съезда – решили отложить на год».(1929г).

[1]. Российская национальная библиотека ф.813.д.166.

## ПРОТИВОСТОЯНИЕ КОНЦЕПЦИЙ АВТОГЕНЕЗА И ЭКТОГЕНЕЗА В РОССИЙСКОЙ ГЕНЕТИКЕ В 1920-е гг.

Ермолаев А.И.

*Санкт-Петербургский филиал Института истории естествознания и техники  
им. С.И. Вавилова РАН, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб, 5.*

[yamatamura@yandex.ru](mailto:yamatamura@yandex.ru)

Первая треть XX века — период непрерывающейся борьбы генетиков с неоламаркистами в области понимания мутационной теории, разграничения мутаций и модификаций и разработки подходов к исследованию мутагенеза. Эта борьба велась, в первую очередь, вокруг вопроса о наследовании «благоприобретенных признаков». Апологеты «строгой» генетики отстаивали, вслед за Августом Вейсманом, тезис о ненаследуемости таких признаков, то есть считали, что изменения сомы никак не сказывается на половых клетках (что полностью согласовывалось с данными раннего менделизма). А это, в свою очередь, вело к признанию абсолютности автогенеза, что делало естественный отбор если не ненужным, то по крайней мере не основным механизмом эволюции. Признание же наследования «благоприобретенных признаков» усиливало позиции неоламаркизма. В СССР в те годы эта борьба протекала особенно остро.

В 1927 г. Г. Мёллер сделал свой знаменитый доклад об открытии радиационного мутагенеза. Именно это открытие Г. Мёллера и последовавшее за ним интенсивное и широкомасштабное изучение индуцированного мутагенеза позволило генетикам преодолеть большинство противоречий, связанных с «проблемой благоприобретенных признаков». После этого и автогенез, и эктогенез изжили себя в качестве самостоятельных научных течений, и стало казаться что они имеют лишь исторический интерес. Однако, в начале XXI века эпигенетика поставила перед учеными проблемы, косвенно связанные с теми же вопросами. Оказалось, что некоторые мутации способны стабильно наследоваться в ряду поколений, а некоторые нарушения структуры генетического материала приводят к ненаследуемым изменениям фенотипа, что потребовало пересмотра классической концепции изменчивости.

В этой связи интересно рассмотреть, как оценивали российские (в том числе ленинградские) генетики положения автогенеза и эктогенеза в 1920-е – начале 1930-х годов и как это сказывалось на их методологических подходах к экспериментам в области мутационной теории.

## О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ И ЗАРУБЕЖНЫХ ГЕНЕТИКОВ В РУКОПИСНОМ НАСЛЕДИИ Ф. Г. ДОБРЖАНСКОГО

Конашев М.Б.

*Санкт-Петербургский филиал Института истории естествознания и техники им. С.И. Вавилова Российской академии наук (СПбФ ИИЕТ РАН), Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 5/2, 199034*  
[mbkonasjev@mail.ru](mailto:mbkonasjev@mail.ru)

Помимо статей и рецензий на книги Ф. Г. Добржанский писал о взаимодействии отечественных и зарубежных генетиков в своих письмах к коллегам и друзьям на родине, в СССР, а также в своём дневнике, который вёл большую часть своей жизни на русском и английском языках. Наибольший интерес представляют его записи в дневнике, которые содержат не только ряд малоизвестных, или вообще неизвестных фактов, но и его оценки, подчас весьма нелицеприятные, отечественных и зарубежных генетиков, а также других ученых, различных государственных и общественных деятелей, имевших то или иное отношение к развитию генетики, состоянию науки, образования и культуры, положению учёных в СССР и других странах. В целом рукописное наследие Ф. Г. Добржанского представляет собой уникальный источник по истории отечественной и мировой генетики, эволюционной биологии.

## ПРОВИДЕЛ ЛИ Н.К. КОЛЬЦОВ «МАТРИЧНЫЙ ПРИНЦИП»

Хромов-Борисов Н.Н.

Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова

Россия, 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2

[Nikita.KhromovBorisov@gmail.com](mailto:Nikita.KhromovBorisov@gmail.com)

«Обязанность ученого очищать мировоззрение современников от заблуждений». Н.К. Кольцов В большинстве современных источников Николай Константинович Кольцов объявляется автором основополагающей идеи о наследственных молекулах и **матричном принципе** их воспроизведения. Однако это не соответствует исторической истине. Например, еще в 1922 г. Мёллер писал: *«Каждая отдельная часть генной структуры должна – подобно кристаллу – притягивать к себе из протоплазмы материал подобного же рода, тем самым отливая рядом с исходным геном другую структуру с идентично расположенными подобными частями, которые связываются друг с другом, образуя другой ген – копию первого»* [1]. Первая публикация Кольцова на эту тему датируется 1927 г., но он сам признает, что в том же году и явно независимо от него аналогичную идею опубликовал Przibram [2].

У Кольцова было четыре величайших предвидения: (1) Вопрос о форме (морфе) белковой молекулы лежит в основе всей проблемы физико-химической природы морфологии организмов. (2) Хромосомы – это огромные белковые молекулы, в которых радикалы распределены в определенном для каждого вида порядке. (3) Сложность такой молекулы столь велика, что ее копия не может создаваться в клетке заново. Она возникает только при наличии в клетке уже готовой молекулы – затравки. *Omnis molecula ex molecula.* (4) Радикалы хромосомной молекулы занимают в ней совершенно определенное место, и малейшие химические изменения в этих радикалах, должны являться источником новых мутаций.

Однако Кольцов представлял процесс копирования исключительно как кристаллизацию (или аппозицию - наслоение) вокруг уже предсуществующей молекулы-затравки. И слов «матрица», «матричный процесс» или «матричный принцип» он не употреблял. Независимо от него намеки на матричный принцип высказали в 1936 и 1937 гг. Мёллер и Холдейн. Только уже после кончины Кольцова стали появляться идеи о комплементарном взаимодействии (Pauling, Delbruck, 1940, Friedrich-Freksa, 1940, Emerson, 1945, Muller, 1947), венцом которых стала знаменитая революционная работа Уотсона и Крика (1953).

Утверждения о Кольцове как провозвестнике матричного принципа появились лишь после широко отмечавшегося его 100-летнего юбилея в 1972 г., т.е. уже в эпоху ДНК. Очевидно, что не следует приписывать Кольцову того, чего он не говорил. Не было у него (да, скорее всего, и не могло быть) ни малейшего намека на “матричность” процесса воспроизведения генов. Н.К. Кольцов велик и без этого и не нуждается в ложном возвеличивании.

[1]. Muller H. J. Variations due to change in the individual gene. // Amer. Nat., 1922, V.56, P.32-50.

[2]. Przibram H. Die Größenordnung letzter Lebenseinheiten. // Zeitschrift fur induktive Abstammung- und Vererbungslehre, 1927, B. 43, H. 1, S. 389-390.

## ЭСТЕТИКА ПРИРОДЫ – НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В КЛЮЧЕ РАЗВИТИЯ НАСЛЕДИЯ Н.И. ВАВИЛОВА

Булатова Н.Ш.

*Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН, Россия, Москва, 121170  
Ленинский пр. 33*

*[bulatova\\_nsh@sevin.ru](mailto:bulatova_nsh@sevin.ru)*

Работами академика Н.И. Вавилова царивший в человеческом сознании хаос разнообразия мировой культурной флоры приведен в вид «определенно сконструированной и логически продуманной системы», достойной модели изучения эстетики природы, по определению А.Ф. Лосева (Лосев, Тахо-Годи, 2006). Эстетика природы может претендовать на новое направление системной биологии в ключе развития наследия Вавилова.

## СПОРНЫЕ ВОПРОСЫ И ДИСКУССИИ В ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ГЕНЕТИКЕ

Асланян М.М

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (МГУ)  
Биологический факультет. РФ. г. Москва. Ленинские горы д.1, стр. 12.

[marlen32@mail.ru](mailto:marlen32@mail.ru)

Первые годы советской власти характеризовались идеологическими дискуссиями в науке и сфере образования. Особенно остро они проходили по генетическим проблемам. С 1920 по 1929 г. г.проходили ожесточенные споры по «евгеническим вопросам и «социальному дарвинизму», завершившиеся роспуском «Русского евгенического общества» и отказом ведущих ученых - генетиков от евгенических взглядов. 1930 год - особое внимание Советского правительства развитию сельского хозяйства. Академик Н.И. Вавилов-президент ВАСХНИЛ. Агроном Т.Д. Лысенко обещает с помощью метода «яровизации» существенно ускорить создание новых сортов растений. Если сессия ВАСХНИЛ 1936 г. носила дискуссионный характер, то августовская сессия 1948 г. явилась политической, идеологической акцией. Т.Д. Лысенко и его сторонники полностью отвергали существование дискретных единиц наследственности – генов, и имели особое понимание “причинности и стохастичности» биологических процессов. Мне хотелось бы обратить внимание на один парадоксальный случай. Речь идет об экспериментальной работе О. Эйвери с сотрудниками 1944 г., доказавшей генетическую роль ДНК. Т.Д. Лысенко первым обратил внимание на эту статью и опубликовал на русском языке в редактируемом им журнале «Агробиология» 1946 г. [1] . По мнению Лысенко эти эксперименты подтверждали его основную идею о природе наследственности и изменчивости, а именно, что «внешние условия (факторы) воздействуя на организм, изменяют наследственность адекватно (соответственно) своей природе. Фактор, изменяющий адекватно своей природе наследственность обработанного пневмококка, оказался «веществом наследственности», существование которого полностью отрицалось Т. Д. Лысенко. Наследственность как свойство организмов передавать константное проявление признаков в ряду поколений осуществляется в ходе реализации 3-х важных процессов: 1. Хранение генетической информации ; 2. Репликация генетического материала при делении клеток; 3. Реализация генетической информации. Ошибка Лысенко заключалась в том, что он отвергал существование генов, а рассматривал лишь этап реализации генетической информации. Достижения же современной эпигенетики, опирающиеся на глубокие исследования молекулярной биологии гена никак не связаны с идеями Лысенко.

[1] Эйвери О.Т, Мак -Лиод К. М., Мак - Карти М. Исследование химической природы вещества, вызывающего превращение одного типа пневмококков в другой. // Агробиология. 1946. №3.

## **«НЕ ПРОИГРЫВАЙТЕ ВЫИГРЫШНЫХ ПАРТИЙ» ИЛИ БЛИСТАТЕЛЬНЫЙ ОПЫТ ВЫЖИВАНИЯ КАФЕДРЫ ГЕНЕТИКИ ЛГУ ПОСЛЕ СЕССИИ ВАСХНИЛ В КОЛТУШАХ: ПАВЛОВ, ОРБЕЛИ, ЛОБАШЕВ**

Савватеева-Попова Е.В.

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург,  
199034, наб. Макарова,  
[esavvateeva@mail.ru](mailto:esavvateeva@mail.ru)

Экспериментальная генетика высшей нервной деятельности» - начертано И.П. Павловым на фасаде его лаборатории в Колтушах, всемирно известном месте создания Учения о типах ВНД. Оно стало и провозвестием предиктивной и персонифицированной медицины, и началом постоянного служения обществу. Предложенная И.П. Павловым методика классификации типов ВНД по кофеиновым пробам у собак сразу же была применена Л. В. Крушинским (1911-1984, член-корр АН СССР, лауреат Ленинской премии, зав. кафедрой физиологии ВНД МГУ). По приглашению Л.А. Орбели с 1938 по 1948 гг. работал консультантом лаборатории генетики ВНД в Колтушах. К началу Второй Мировой Войны он создает экспресс-метод для отбора в поле, в боевых условиях служебных собак по типам ВНД для минно-розыскной, противотанковой и санитарной служб. И с подачи Л.А. Орбели Учение Павлова обеспечило победу Красной Армии и служит медицине катастроф МЧС и ВКС РФ. Как ни парадоксально, новый бурный всплеск служения обществу произошел после уничтожившей генетику сессии ВАСХНИЛ. В 1949 г. Л.А. Орбели принял на работу в Колтуши выгнанного из ЛГУ декана Биофака, генетика М.Е. Лобашева. С ним пришли студенты его кафедры (В.Б. Савватеев и И.А. Никитина) и кафедры Общей и Сравнительной Физиологии Д.Н. Насонова (В.В. Пономаренко и Н.Г. Лопатина). Их задачей было развитие условно-рефлекторного учения И.П. Павлова в эволюционном преломлении у животных разных филогенетических уровней: шелкопряд, разные географические расы медоносной пчелы, виды осетровых рыб, породы кур и уток. И за 8 лет до воссоздания кафедры генетики и селекции ЛГУ в 1957 г. условный рефлекс стал приносить доходы и самой ВАСХНИЛ: лаборатория генетика М.Е. Лобашева постоянно публиковала свои инновационные и используемые до сих пор методики в журналах «Пчеловодство», «Птицеводство», «Рыбоводство и рыболовство». В 1952 г. к коттеджам в Колтушах подступила самая северная плантация шелковицы и опубликован метод условно-рефлекторного увеличения количество шелкового волокна. И если Нобелевская премия за изучение генов циркадного ритма была присуждена в 2017 г, лаборатория Лобашева уже в 1955-1956 гг. внедрила в колхозов Ленобласти разработанные сотрудниками автоматы поддержания двухфазного ритм освещения птичников в течение суток для 2-кратного повышения яйценоскости кур. Тогда же разработана условно-рефлекторная методика (Лопатина и др.), побуждающая пчел к сбору меда с нужных растений. Именно поэтому с тех пор мы покупаем липовый, гречишный и прочие сорта меда. Инновационный прорыв был обеспечен и в рыбоводстве – самым впечатляющим стало получение в Баку Р.Ю. Касимовым, бывшим аспирантом Лобашева, гибридов осетровых рыб белуги и шипа. Молодь гибридов выращивали в установках замкнутого цикла в Колтушах, и дорастиваемых до потребительского уровня в термальных водах Киришской ГРЭС, Разведение рыбы в отводящем канале КирГРЭС теперь предлагается малому и среднему бизнесу, но тогда было прервано распадом СССР и признанием в 1991 г. рыбоводства непрофильным для КирГРЭС. Все эти инновации – результат развития экспериментальной генетики ВНД. Уже в 1956 (!) г. М.Е. Лобашев публикует работу «Генетика и условный рефлекс» (Известия АН СССР), и в 1957 и 1960 гг. - революционный итог фундаментальных исследований 8-ми лет: «Гибридологический анализ и сравнительное изучение условного рефлекса у разных пород кур, видов осетровых рыб и

географических рас медоносной пчелы показал, что, хотя насекомые и высшие животные разошлись в их эволюционном развитии на стадии донервного предка, возникновение и усложнение механизма временной связи происходило по принципу параллельной эволюции. На всех уровнях филогенеза многоклеточных животных, имеющих ЦНС, механизм временной связи принципиально однотипен, при этом грибовидные тела насекомых выполняют ту же функцию в формировании условного рефлекса, что и головной мозг млекопитающих» (Лобашев, 1957, 1960. О параллельных аналогичных и гомологичных рядах развития основных свойств высшей нервной деятельности в филогенезе животных). И.П. Павлов, Иоган Грегор Мендель и Н.И. Вавилов творили в одно время, обогащая друг друга и нас. Усилиями 4-х поколений генетиков Колтушей обеспечено и новое прочтение Закона Гомологических рядов наследственной изменчивости Н.И. Вавилова: эволюционная консервативности генов гарантирует внедрение мутационных и популяционных моделей беспозвоночных для создания и тестирования новых средств терапии нейропатологий человека в целях персонифицированной медицины. Кафедра генетики ЛГУ не проигрывает выигрышных партий.

## НЕОДНОЗНАЧНАЯ РЕАКЦИЯ ПАРТИЙНЫХ ВЛАСТЕЙ ЛЕНИНГРАДА НА УЧЕБНИК М.Е. ЛОБАШЕВА

Колчинский Э.И.

*Санкт-Петербургский филиал Института истории естествознания и техники им. С.И. Вавилова РАН, Россия, Санкт-Петербург, 199034. Университетская наб., д. 5  
ekolchinsky@yandex.ru*

Судьбы ленинградских генетиков зависели не только от ЦК ВКП(б)/КПСС, но и от областной партийной организации, порой бравшей их под защиту или стремившейся как-то помочь. Так было в 1931 г., когда Ленинградский обком во главе с С.М. Кировым защитил Н.И. Вавилова от нападков диалектизаторов биологии [1]. В 1939 г. другой лидер ленинградских коммунистов А.А. Жданов поддержал предложение об организации дискуссии генетиков с мичуринцами. После Августовской сессии ВАСХНИЛ из ленинградских вузов были уволены многие сторонники генетики, но репрессии имели не столь трагические последствия, как в других городах. Молчаливая поддержка действий ректората ЛГУ местными партийными властями очевидна в изгнании И.И. Презента из ЛГУ в 1951 г. и в блокировании попыток его вернуть, в ознакомлении студентов ЛГУ с основами классической генетики под видом критики «морганизма-менделизма» [2]. Декан биолого-почвенного факультета ЛГУ Н.П. Турбин напечатал в «Ботаническом журнале» (1952) первую статью с критикой взглядов Т.Д. Лысенко, а вскоре сменившие его на этой должности А.Л. Тахтаджян, а затем К.М. Завадский начали последовательную борьбу с мичуринцами, добиваясь восстановления генетики и современной эволюционной теории в университетских программах. Их усилия поддержал БИН АН СССР. В 1955 г. В.Я. Александров, Д.В. Лебедев и Ю.М. Оленов подготовили знаменитое «письмо трехсот». В том же году заведующим кафедрой генетики и селекции в ЛГУ стал М.С. Навашин.

В 1957 г. его сменил М.Е. Лобашёв, читавший впервые в стране полноценный курс генетики и опубликовавший в 1963 г. учебник «Генетика», события вокруг которого еще раз показали амбивалентность Ленинградского обкома относительно генетики. Записка в ЦК КПСС, подписанная В.С. Толстиком 19 февраля 1964 г., свидетельствует, что хотя ее авторы и калялись в политической близорукости, но воздерживались от оценок содержания учебника, приводя как положительные, так и отрицательные рецензии. Они избегали обвинений в адрес ЛГУ и «козлов отпущения» искали за пределами Ленинграда. В итоге никаких кадровых решений и партийных наказаний биологам ЛГУ не было.

[1] Kolchinsky E.I. Nikolai Vavilov in the years of Stalin's revolution from above (1929–1932) // 2014, Centaurus, V. 56, 4, P. 330–358.

[2] Колчинский Э.И., Кирилл Михайлович Завадский. 1910–1977. СПб., 2013. С. 108–132.

[3] Колчинский Э.И., Шалимов С.В. «Оттепель» и генетика: из истории публикации первого отечественного учебника по генетике // 2017. Росс. история, 4, С. 75–83.

## МЕЖДУНАРОДНЫЕ СВЯЗИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ГЕНЕТИКОВ В 1960-Е ГГ.

Шалимов С.В.

*Санкт-Петербургский филиал Института истории естествознания и техники им. С.И. Вавилова РАН,*

*199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная наб., д, 5.*

*sshai85@mail.ru*

«Перестройка» в биологической науке, начавшаяся в середине 1960-х гг., привела к заметной активизации международных контактов отечественных генетиков. В частности, 25 декабря 1964 г. в знаменитом постановлении Президиума Академии наук «О развитии в Академии наук СССР научно-исследовательских работ в области генетики», говорилось о необходимости отправки молодых ученых на стажировки за границу на длительный срок [1]. Характерно, что важные шаги по преодолению международной изоляции отечественного генетического сообщества были сделаны еще в годы «лысенковщины» и всевластия в биологии «народного академика». Например, в работе XI Международного генетического конгресса, проходившего в 1963 г. в Гааге (Нидерланды), впервые наряду с «лысенковцами» принимали участие настоящие генетики, в том числе директор Института цитологии и генетики СО АН Д.К. Беляев. В том же году один из ведущих сотрудников названного института известный генетик растений П.К. Шкварников побывал в командировке в США [2].

В авангарде процесса интеграции советских генетиков в международное научное сообщество стояла также кафедра генетики Ленинградского государственного университета. Так, в 1960-е гг. целую плеяду молодых ученых, среди которых были будущий академик С.Г. Инге-Вечтомов, В.Г. Смирнов и К.В. Квитко, удалось отправить в зарубежные стажировки благодаря усилиям профессора ЛГУ М.Е. Лобашева [3].

В 1965 г. состоялся первый массовый выезд советских генетиков на юбилейную конференцию, посвященную 100-летию выхода в свет труда Г. Менделя «Опыты над растительными гибридами» и проходившую в Брно (Чехословакия). По-настоящему знаковым событием стало участие советской делегации в XII Международном генетическом конгрессе, проходившем в 1968 г. в Токио (Япония).

Вместе с тем расширение международных контактов могло бы быть гораздо более результативным, если бы не общие проблемы, с которыми сталкивались все советские ученые. «Железный занавес», трудности с выездом за границу, наряду с языковым барьером и обострением «холодной войны», являлись существенным препятствием для полноценного включения отечественных генетиков в международное научное сообщество.

[1]. Архив Российской академии наук. Ф. 2. Оп. 6. Д. 504. Л. 55.

[2]. Шалимов С.В., «Спасение и возрождение»: Исторический очерк развития генетики в Новосибирском научном центре в годы «оттепели» (1957–1964). Новосибирск: Манускрипт, 2011. С. 223-227.

[3]. Инге-Вечтомов С.Г., Ретроспектива генетики. Genetics in retrospect (Курс лекций). СПб.: Изд-во Н-Л, 2015. С. 240.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ), проект № 18-511-22002.

## Ассоциированный симпозиум: Биоресурсные коллекции и геномные биобанки / Associate Symposium: Bioresource Collections and Genomic Biobanks

### БИОРЕСУРСНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ИНСТИТУТОВ МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ: ОПЫТ ИНВЕНТАРИЗАЦИИ И РАЗВИТИЯ

Колчанов Н.А.

*Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН,  
Новосибирск, Россия,  
kol@bionet.nsc.ru*

С учетом высокой значимости биоресурсных коллекций (БРК) для выполнения фундаментальных и поисковых исследований, а также прикладных разработок, в 2015 году началась работа по формированию подходов к инвентаризации, поддержанию и развитию биоресурсных коллекций научных организаций Российской Федерации. Работа осуществлялась по следующим направлениям:

1. Разработка и заполнение паспортов БРК, включающих сведения о содержащихся в них биологических объектах, объеме коллекционного фонда, о назначении коллекции и ее востребованности, о персонале, работающем для поддержания коллекций, и другую информацию.
2. Выработка единых форматов описания единиц хранения в компьютерных базах данных.
3. Формирование единой концепции стандартных операционных процедур (СОП), направленных на поддержание и развитие БРК.
4. Разработка и размещение на интернет-сайтах организаций-держателей коллекций наборов специфичных СОПов для каждой коллекции.
5. Проведение экспериментальной верификации основных СОПов.
6. Создание единого интернет-портала (<https://pm.cytogen.ru/>) для информационной поддержки полных циклов выполнения работ в рамках дополнительных госзаданий по БРК (ведение документации, хранения данных о БРК и др.).
7. Проработка вопросов правового обеспечения БРК.
8. Разработка финансовой модели функционирования биоресурсных коллекций на основе расчета и верификации стоимости выполнения СОПов поддержания и развития БРК.

Инвентаризация БРК на начало 2017 года позволила описать 166 коллекций. Созданный в рамках проводимых работ информационный портал к концу 2018 года содержал уже 252 коллекции: 44 коллекции микроорганизмов, 16 коллекций культур клеток, 82 коллекции сельскохозяйственных растений, 48 гербарных коллекций, 23 коллекции диких и лабораторных животных, 15 музейных зоологических коллекций животных, 9 коллекций сельскохозяйственных животных, 15 коллекций биоматериалов человека.

## **ЗООЛОГИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ В АКАДЕМИЧЕСКИХ ИНСТИТУТАХ: СТАТУС КОЛЛЕКЦИЙ, ПРОБЛЕМЫ УПРАВЛЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ**

Пугачев О.Н., Войта Л.Л., Ананьева Н.Б., Абрамов А.В.

*Зоологический институт РАН, Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, Россия*

Зоологические коллекции академических институтов РАН представляют важнейшую историческую и научную ценность. Они собирались на всех территориях и в акваториях нашей планеты на протяжении последних 200 лет усилиями поколений исследователей, среди которых выдающиеся российские ученые и путешественники В.И. Беринг, П.С. Паллас, А.Ф. Миддендорф, И.Г. Вознесенский, Г.И. Лангсдорф, Н.М. Пржевальский, П.К. Козлов, В.И. Роборовский, Н.А. Зарудный, Н.А. Северцов, П.П. Семенова-Тян-Шаньский и многие другие. На сегодня примерный объем российских фондов зоологических коллекций может оцениваться 80 млн. единиц хранения. Часть этих фондов приходится на уникальные коллекции номенклатурных типов, а также на не менее уникальные авторские коллекции.

В настоящее время назрел вопрос о статусе этих коллекций. На примере крупнейшей зоологической коллекции Зоологического института РАН, включающей более 60 млн. единиц хранения, предлагается к рассмотрению ряд острых вопросов — статуса коллекций, финансирования, управления, развития инфраструктуры и кадрового резерва. В частности, неопределенный статус коллекций делает многомиллионные фонды "невидимыми" при определении объемов ежегодного бюджетного финансирования. Существовавшие ранее тематические государственные задания по коллекционным темам из планов 2019–2021 гг. были исключены учредителями. На сегодня финансирование целевых рутинных работ по фондовым коллекциям ведется только за счет временных грантов, которые не покрывают даже 1% необходимых затрат.

В современных условиях перспективным является развитие интегрированной сети коллекций с выработкой единой программы развития, единой системы стандартов.

## ОПЫТ СОЗДАНИЯ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Мошкин М.П.

*Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск*

*mmp@bionet.nsc.ru*

Генетические линии лабораторных животных играют ключевую роль в решении задач фундаментальной биологии, изучении механизмов возникновения различных заболеваний, поиске новых фармакологических препаратов, а также в исследовании рисков взаимодействия человека с неблагоприятными факторами антропогенного происхождения, например, с наночастицами. Для инфраструктурного обеспечения этих работ во всех развитых странах созданы специализированные центры, которые работают с десятками тысяч генетических линий лабораторных животных (мыши и крысы), моделирующих многообразие патологий человека, в том числе - этнические особенности течения болезней. Сегодня концепция центра генетических ресурсов (ЦГР), соответствующая международным требованиям и национальным планам развития медицинской науки, фармакологии и сельского хозяйства, реализована на базе «SPF вивария» ИЦиГ СО РАН, в котором созданы условия для: (1) разведения и содержания животных свободных от видоспецифических патогенов (specific pathogen free – SPF); (2) формирования криоколлекций генетических линий; (3) выполнения работ по репродуктивным и генно-инженерным технологиям; (4) высокотехнологичному фенотипированию, включая методы прижизненного имиджинга; (5) проведению доклинических испытаний новых фармпрепаратов в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики - GLP. Технологические возможности ЦГР позволяют выполнять до 500 научно-исследовательских проектов и доклинических испытаний в год с использованием до 25 000 лабораторных животных. Коллекция ЦГР превысила к настоящему времени 100 генетических линий мышей, крыс и хомячков. При этом только в последние 3 года коллекция была пополнена 26 новыми линиями мышей, созданными в лабораториях ФИЦ ИЦиГ СО РАН, ИМБ РАН и МГУ. Иными словами, ЦГР начал реально выполнять функцию национального депозитария генетических линий лабораторных мышей и крыс. Нужно отметить, что постановка линии в коллекцию ЦГР предполагает освобождение животных от патогенов (редеривацию), отработку технологии разведения, криоархивирование в виде двуклеточных эмбрионов и мужских гамет, т.е. приведение линии животных в соответствие международным стандартам качества.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Минобрнауки (гранты ФЦП №№: RFMEFI62117X0015; RFMEFI62114X0010; RFMEFI61914X0005) и ФАНО (гранты БРК: № 0324-2016-0007; № 0324-2017-0007).

## IS IT REALISTIC TO CREATE A BANK OF MARINE GENETIC RESOURCES ON THE BASIS OF MARINE BIOBANK NSCMB FEB RAS?

Orlova T. Yu.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*National Scientific Center of Marine Biology, Far Eastern Branch,  
Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690041*

*torlova06@mail.ru*

The Bioresource collections consisting of biological samples and associated data, have gained great significance for fundamental research and biotechnology. The information on the Bioresource collection Marine Biobank “MBRU” (<http://marbank.dvo.ru>) is presented. MBRU was established in 2017 on existing unique biological collections located at the National Scientific Center of Marine Biology of Far Eastern Branch of Academy of Sciences of Russia (NSCMB FEB RAS) in Vladivostok. MBRU is intended for storing, studying and implementing the results of a wide range of marine biological samples. MBRU is a new generation biorepository that combines the capabilities of the ultramodern robotic cryostorage of marine biomaterial, advanced information technologies for organizing open access to the stock collections, high-tech cellular technologies, and molecular genetic and biochemistry studies. While biobanks are increasingly recognized as a crucial infrastructure for research, at the same time the widely varied practices in biobanking regarding for collection, storage and consent procedures may be a barrier to cross-border research and collaboration by limiting access to samples and data. In this regard, the current state and prospects for the development of the Russian marine biobank are presented. The prospects of creating a bank of Marine Genetic Resources on the basis of Marine Biobank NSCMB FEB RAS is discussed.

This work is supported by FEB RAS “Dalnii Vostok” grant No. 18-4-050 “Development of approaches and methods of biobanking as the basis of the technology of conservation and rational use of marine biological resources of the Far Eastern region of the Russian Federation”

## БИОКОЛЛЕКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ: ФОРМЫ СОХРАНЕНИЯ И НАПРАВЛЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Зиновьева Н.А.

ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, 142132 Россия, г.о. Подольск, п. Дубровицы, 60,  
[n\\_zinovieva@mail.ru](mailto:n_zinovieva@mail.ru)

Биоколлекции сельскохозяйственных и родственных им диких видов животных являются важнейшей составляющей в сохранении, изучении и использовании биоразнообразия. Сохранение биоресурсов животных сельскохозяйственного назначения осуществляется в двух основных формах – *in situ*, то есть в условиях ведения сельскохозяйственного производства, а также *ex situ*. Последнее, в свою очередь, может осуществляться в двух формах – *in vivo* и *in vitro*. С развитием новых репродуктивных и клеточных технологий, *in vitro* сохранение или криоконсервация становится наиболее перспективным способом поддержания биоколлекций сельскохозяйственных животных. Особенностью биоколлекций сельскохозяйственных животных является то, что основной структурной единицей таких коллекций является порода. В настоящее время в России разводится 30 пород крупного рогатого скота, 39 - овец, 4 - коз, 11 – свиней, 33 – лошадей, 4 – северных оленей, более 60 – кур, уток, гусей, цесарок, индеек и перепелов. В этой связи, первым этапом создания биоколлекций сельскохозяйственных генетических ресурсов должна стать оценка значения пород с точки зрения необходимости их сохранения как уникального генетического ресурса. Проведенные исследования аллелофонов крупного рогатого скота, овец, коз, северных оленей [1-4] показали, что в современных популяциях отечественных пород сохранились исходные (аутентичные) геномные компоненты, что делает их важнейшими национальными генетическими ресурсами, необходимыми для решения приоритетных задач научно-технологического развития, имеющих фундаментальное и прикладное значение.

[1]. Zinovieva N.A. et al. Study of genetic diversity and population structure of five Russian cattle breeds using whole-genome SNP analysis // 2016, *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, V.51(2), P.788-800. doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.788eng

[2]. Sermyagin A.A. et al. Whole-genome SNP analysis elucidates the genetic structure of Russian cattle and its relationship with Eurasian taurine breeds // 2018, *Gen. Sel. Evol.*, V.50, 37. doi: 10.1186/s12711-018-0408-8.

[3]. Deniskova T.E. et al. Population structure and genetic diversity of twenty-five Russian sheep breeds based on whole-genome genotyping // 2018, *Gen. Sel. Evol.*, V.50, 29. doi: 10.1186/s12711-018-0399-5.

[4]. Kharzinova V.R. et al. Genetic diversity and population structure of domestic and wild reindeer (*Rangifer tarandus* L. 1758): A novel approach using BovineHD BeadChip // 2018, *PLoS ONE*. V.13(11), e0207944. doi: 10.1371/journal.pone.0207944.

## ОПЫТ РАЗВИТИЯ КОЛЛЕКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР / EXPERIENCE IN THE DEVELOPMENT OF A COLLECTION OF CELL CULTURES

Воротеляк Е.А.<sup>1</sup>, Алпеева Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН), Москва, 119334, ул. Вавилова, 26,

[\\_vorotelyak@yandex.ru](mailto:_vorotelyak@yandex.ru)

Рассматривается опыт развития Коллекции клеточных культур для биотехнологических и биомедицинских исследований (общебиологического и биомедицинского направления) (далее – Коллекция), работающей на базе ИБР РАН. В период с 2016 по 2018 гг. в рамках дополнительного Государственного задания была проведена инвентаризация, каталогизация и расширение Коллекции, разработаны СОПы, составлен унифицированный паспорт клеточной линии, введены в практику методы контроля качества и характеристики клеточных линий, включая инфекционную чистоту, наличие контаминации другими линиями (STR-профилирование), кариотипирование и другие. Создана электронная база данных коллекции. Ведется постоянная работа по пополнению коллекции новыми клеточными линиями человека и животных, в том числе, с модифицированным геномом.

Благодарности: Данная работа была выполнена в рамках Государственного задания ИБР РАН

## ИНФОРМАЦИОННАЯ ПЛАТФОРМА БИОБАНКОВ НА ОСНОВЕ РЕШЕНИЙ «БАРС ГРУПП»/ INFORMATION PLATFORM OF BIOBANKS BASED ON "BARS GROUP"'S SOLUTIONS

Ашенбреннер И. В.

18-22 июня 2019 г., Санкт-Петербург Международный Конгресс «VII съезд ВОГиС, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы»  
Информация с сайта конгресса: Ассоциированный симпозиум «БИОРЕСУРСНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ И ГЕНОМНЫЕ БИОБАНКИ» 20 июня 2019, СПбГУ, кампус Михайловская дача Программа симпозиума посвящена широкому спектру наиболее важных и актуальных вопросов в области биобанкинга и биоресурсных коллекций, включая развитие биобанкинга в России, проведение геномных исследований и другие актуальные вопросы: ♣ Биоресурсные коллекции и биобанки: текущее состояние и перспективы развития ♣ Биоресурсы: от коллекций растений, животных и микроорганизмов до персональных биобанков ♣ Геномные биобанки и их особенности ♣ Вопрос обмена образцами и информацией ♣ Персонализированная медицина как результат практической пользы от сбора биоматериалов и информации ♣ Специализированные биобанки Наш доклад: Информационная платформа биобанков на основе решений «БАРС Групп» Информационно-аналитическая платформа для геномных и клинических данных Тезисы: Биобанк как важнейшее звено персонализированной и трансляционной медицины Инструменты персонализированной медицины – биобанкинг, клиническая и молекулярная генетика. Технологические решения в инфраструктуре современного биобанка Применение инновационных технологий и особый уровень защиты генетических данных. Паспортизация коллекции биообразцов, унифицированное программное и биоинформатическое сопровождение. Интегрированная информационно-аналитическая платформа биобанков на основе решений «БАРС Групп», централизованная база геномных и клинических данных Современная ИТ-инфраструктура управления образцами и данными, межколлекционный обмен. ИТ-интеграция клинических, научных, генетических, административных ресурсов. Взаимодействие учреждений и обеспечение совместной работы для реализации научных и медицинских целей. Использование платформы для развития персонализированной медицины. Перспективы Ведение биопаспортов на основе индивидуальных генетических данных. Создание базы популяционных данных. Развитие биомедицинского кластера в России

## ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА ПРОЕКТА «НОЕВ КОВЧЕГ»: ОБЪЯТЬ НЕОБЪЯТНОЕ МОЖНО!

Каменский П.А.

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

*119234, Москва, Ленинские горы, дом 1*

[peter@protein.bio.msu.ru](mailto:peter@protein.bio.msu.ru)

История изучения биоразнообразия нашей планеты насчитывает несколько столетий. За это время было сделано множество открытий, и сегодня можно утверждать, что мы кое-что знаем о принципах организации живого на различных уровнях. В XX веке основные усилия ученых были направлены на исследования индивидуальных объектов (например, морфология различных видов, молекулярные механизмы внутриклеточных процессов, секвенирование ДНК и т.д.). С другой стороны, в настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что сравнительный подход к изучению биоразнообразия (то есть одновременный анализ нескольких объектов с последующей интеграцией полученных данных и поиском общих принципов на их основе) существенно более эффективен, чем индивидуальные исследования единичных объектов. Сравнительная биология позволяет получать результаты, которые принципиально невозможно получить, работая с одним объектом. Более того, чем больше объектов вовлечено в сравнительный анализ, тем более значимые результаты можно получить при их сравнении.

Чтобы обеспечить быстрый и удобный доступ исследователей к большому количеству биологических объектов для проведения сравнительных работ, эти объекты должны быть организованы в крупные депозитарии. Таким образом, биологические коллекции становятся все более и более важным элементом передовых исследований. Сегодня в мире существует огромное количество биологических коллекций, в которых различными способами хранятся самые разнообразные образцы. К сожалению, многие из этих коллекций не удовлетворяют современным требованиям к проведению высокоуровневых сравнительных исследований. Разные коллекции организованы разными способами и не представлены в едином виртуальном пространстве, что существенно затрудняет их использование в науке.

Для решения этой проблемы в МГУ имени М.В.Ломоносова в 2015 году был запущен проект «Ноев ковчег». За 5 лет его выполнения более 150 биологических коллекций МГУ были модернизированы и приведены к единому формату представления данных. Это позволило запустить информационную систему проекта, которая объединяет в себе данные более чем о миллионе самых разных образцов из коллекций МГУ (от гербария до криоколлекций клеток человека). Эта система является готовым прототипом единого всероссийского биоколлекционного информационного пространства. Выход проекта на всероссийский уровень, вне всякого сомнения, существенно повысит качество исследований в области наук о жизни в масштабах всей страны, как это уже произошло в МГУ с вводом системы в действие.

Работа поддержана РФФИ, грант № 14-50-00029

## ИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В РАЗВИТИИ МИКРОБНЫХ КОЛЛЕКЦИЙ

Василенко А.Н., Озерская С.М., Ступарь О.С., Евтушенко Л.И.

*Всероссийская коллекция микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина Российской академии наук (ИБФМ РАН)*

*– обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН,*

*Россия, Пущино, 142290, Московская обл., г. Пущино, проспект Науки, дом 5*

*vanvkm@gmail.com*

Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ), функционирующая на базе ИБФМ РАН, является крупнейшей в России микробной коллекцией по показателю видового разнообразия фонда и одной из наиболее крупных по общей численности (более 21000 штаммов). Входит в первую десятку коллекций мира по видовому разнообразию отдельных групп микроорганизмов (мицелиальные грибы, дрожжи, актинобактерии). Имеет статус Международного органа по депонированию микроорганизмов для целей патентной процедуры в рамках обязательств России по Будапештскому договору о взаимном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры. Является признанным на международном уровне центром депонирования типовых штаммов вновь описываемых видов микроорганизмов. Фонды и научно-сервисные услуги ВКМ востребованы широким кругом организаций различной сферы деятельности и форм собственности. Развитие информационных ресурсов ВКМ является одним из важнейших направлений деятельности коллекции в последние годы. Система информационных ресурсов ВКМ включает основную базу данных по штаммам фонда, с выводом информации по ряду полей в он-лайн каталог (который интегрирован в международную систему по штаммам микроорганизмов коллекций мира – Straininfo и Глобальный каталог микроорганизмов – Global catalogue of microorganisms, GCM), а также содержит ряд других баз данных, в их числе библиографическую (по штаммам ВКМ, цитируемым в публикациях), по питательным средам, по жизнеспособности культур и методам их хранения, по пользователям ВКМ и предоставленным культурам за всю историю ВКМ, по дубликатным фондам/хранилищам.

В докладе будут представлены материалы о международных проектах с участием ВКМ, в их числе, Microbial Resource Research Infrastructure (MIRRI) и Life-Science in the European Open Science Cloud (EOSC-Life). Проекты предусматривают сотрудничество специалистов коллекций разных стран Европы в области развития информационных технологий поддержки деятельности микробных коллекций, с учетом международных норм (документы ISO, OECD Best Practice Guidelines и др.). В фокусе внимания – информационная интеграция коллекций микроорганизмов (каталожные стандарты, использование систем BioMICS и Galaxy), внедрение в систему коллекций микроорганизмов современных информационных технологий (Digital Objects, Semantic WEB) и принципов FAIR (Findable, Accessible, Interoperable, Reusable), организация связи микробных коллекций с различными международными базами данных наук о жизни (Life Science).

## STATE AND DEVELOPMENT OF MICROBIAL COLLECTIONS IN INSTITUTIONS OF RUSSIAN FEDERATION MINISTRY OF SCIENCE AND HIGH EDUCATION

Pimenov N.

(presented by Andrey Mulyukin)

*Winogradsky Institute of Microbiology, Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology”, Russian Academy of Sciences, Leninsky Avenue 33/2, Moscow, Russia*

*[npimenov@mail.ru](mailto:npimenov@mail.ru)*

Numerous microbial collections with different diversity of biological resources are now maintained in Institutions of the Russian Federation Ministry of Science and High Education (formerly, Federal Agency for Scientific Organizations). Major and known collections treasure the most part of diverse bacteria, archaea, fungi, and algae in Russian Federation, which become increasingly important for fundamental science, economy, and sustainable development of biobased industries. This communication has a focus on the current state, specificity, richness and importance of some microbial collections and highlights activities to integrate them into the Core Microbial Resource Center. Thus, standard operational procedures to be used in different collections and the Core Center were developed and verified experimentally in the results of coordinated recent projects. Another important milestone is to develop a unified description for sharing the data about microbiological resources from different, large or small, collections in Russia. Integration of resources, facilities, and experience of leading microbial biobanks and host Institutions is now a prerequisite to keep and extend resources of microorganisms and to perform high-level research using classic methods and advanced ‘omic’ technologies.

## COLLECTION OF UNIQUE AND EXTREMOPHILIC MICROORGANISMS (UNIQEM) AND SURVIVAL OF MICROBES IN NATURAL AND CREATED BIOBANKS

Mulyukin A.

*Winogradsky Institute of Microbiology, Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology", Russian Academy of Sciences, Leninsky Avenue 33/2, Moscow, Russia*  
[andlm@mail.ru](mailto:andlm@mail.ru)

The Collection of Unique and Extremophilic Microorganisms (UNIQEM) in Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology hosts more than 2500 strains, including the representatives of new genera, families and phyla. These microorganisms were isolated from different environments, studied, and described validly by several generations of scientists. The UNIQEM Collection also comprises bacteria and archaea which have the uncertain taxonomic position and are difficult for culturing. Some microbial strains are of potential practical importance or have found applications in biohydrometallurgy, enhanced oil recovery, waste processing or as producers of stable enzymes and bioactive substances. More than 200 new strains are annually isolated from different environments, characterized and identified. A special attention should be paid to mechanisms due to which microorganisms survive for long periods in natural ecosystems to be regarded as unique depositaries of microbial seeds. Gaining insight to dormancy in different microorganisms has become fascinating not only for microbiology and microbial ecology and can be useful for routine storage of stains in collections. Another challenge to maintenance of strains and to isolate new microorganisms to develop approaches to emerge microbial cells from dormancy, often associated with lost culturability. Some relevant issues will briefly be highlighted in this communication.

## РЕСУРСНЫЙ ЦЕНТР «КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ» - ПЕРСПЕКТИВЫ КОМПЛЕКСНОГО ПОДХОДА В ФОРМИРОВАНИИ И ИСПОЛЬЗОВАНИИ КОЛЛЕКЦИЙ ЖИВЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Чистякова Л.В.<sup>1</sup>, Волков К.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Зоологический институт РАН, Россия, Санкт-Петербург, 190121, Английский пр. 32;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, 198504, Ботаническая ул.17

[pelomixa@mail.ru](mailto:pelomixa@mail.ru)

Ресурсный центр «Культивирование микроорганизмов» Научного парка СПбГУ был основан в 2011 году. Основной целью его формирования являлось создание оптимальных условий для поддержания и развития коллекций живых микроорганизмов СПбГУ, а также проведения фундаментальных и прикладных исследований с использованием коллекционных штаммов. В настоящее время на базе ресурсного центра поддерживаются следующие коллекции. Коллекция CALU (Collection of Algae of Leningrad University) – включает 446 штаммов цианобактерий (представители 5 субсекций), 468 штаммов микроводорослей (представители 8 классов, относящихся к 5 различным типам), 3 штамма внутриклеточных паразитов водорослей. Коллекция RC CCM (Resource Centre “Culture Collection of Microorganisms”) – включает 520 клонов гетеротрофных и 28 клонов автотрофных эукариотных микроорганизмов. Большую часть коллекции составляют инфузории рода *Paramecium*, включая клоны, содержащие про- и эукариотные симбионты в различных клеточных компартментах. Кроме того, имеется ряд депонированных коллекций. По количеству и разнообразию представленных авто- и гетеротрофных эукариотных микроорганизмов коллекции ресурсного центра не имеют аналогов в Российской Федерации. Комплексный подход к формированию коллекционных фондов дает ряд преимуществ в плане развития коллекций, богатый опыт культивирования и методическая база позволяют разрабатывать новые методики культивирования, выводить в лабораторную культуру ранее не культивируемые организмы. С другой стороны, значительный выбор модельных и тест-объектов, а также возможность исследования совокупности представителей определенной систематической группы (в том числе, с использованием omics-технологий) расширяет возможности для реализации комплексных исследований и мультидисциплинарных проектов. Так, коллекционные штаммы используют при разработке новых подходов к определению систематической принадлежности микроорганизмов; в моделировании микрообрастаний и биопленок; при изучении механизмов формирования токсичных цианобактериальных цветений и разработке методов борьбы с ними. Активно развивается направление, связанное с определением антимикробной активности и общей токсичности различных материалов, включая разработку новых методик. Исследования ведутся в сотрудничестве с научно-исследовательскими группами различных подразделений СПбГУ и других организаций. Информация о коллекциях представлена здесь <http://researchpark.spbu.ru/collection-ccem-rus>

## GENETIC BIODIVERSITY OF RHIZOBIAL STRAINS ISOLATED FROM ROOT NODULES OF THE RELICT LEGUMES AND DEPOSITED IN THE RUSSIAN COLLECTION OF AGRICULTURAL MICROORGANISMS (RCAM)

Safronova V.<sup>1</sup>, Belimov A.<sup>1</sup>, Sazanova A.<sup>1</sup>, Chirak E.<sup>1</sup>, Kuznetsova I.<sup>1</sup>, Andronov E.<sup>1</sup>, Pinaev A.<sup>1</sup>, Tsyganova A.<sup>1</sup>, Seliverstova E.<sup>1,2</sup>, Kitaeva A.<sup>1</sup>, Tsyganov V.<sup>1</sup>, Tikhonovich I.<sup>1,3</sup>  
<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology (ARRIAM), Russian Federation, St.-Petersburg, 196608, sh. Podbelskogo 3; <sup>2</sup>Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Russian Federation, St.-Petersburg, 194223, pr. Torez 44; <sup>3</sup>Saint Petersburg State University, Department of Genetics and Biotechnology, Russian Federation, St.-Petersburg, 199034, Universitetskaya Emb. 7/9

[v.safronova@rambler.ru](mailto:v.safronova@rambler.ru)

Symbiotic systems of relict legumes are the promising models for studying the evolution of specificity of plant-microbe interactions. The species *Oxytropis triphylla*, *O. popoviana*, *O. tragacanthoides*, *Hedysarum zundukii*, *Astragalus chorinensis* and *Glycyrrhiza uralensis* originated from Baikal Lake region are known as Miocene-Pliocene relicts. The representative collection of microsymbionts of these plant species was recently obtained. It was shown that these isolates belonged to different families of rhizobia (*Rhizobiaceae*, *Phyllobacteriaceae* and *Bradyrhizobiaceae*) and new species *Bosea vaviloviae* and *Phyllobacterium zundukense* were described. Two bacterial strains *Mesorhizobium japonicum* Opo-235 and *M. kowhainii* Ach-343 were isolated from root nodules of *O. popoviana* and *A. chorinensis*, respectively. Symbiotic genes of these strains as well as some genes that promote plant growth (*acdS*, gibberellin- and auxin-synthesis related genes) were searched throughout the whole genome sequences. The sets of plant growth-promoting genes found were almost identical in both strains, whereas the sets of symbiotic genes were different and complemented each other with several *nod*, *nif* and *fix* genes. Effects of mono- and co-inoculation of *Astragalus sericeocanus*, *Oxytropis caespitosa*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Medicago sativa* and *Trifolium pratense* plants with the strains *M. kowhainii* Ach-343 and *M. japonicum* Opo-235 expressing fluorescent proteins mCherry (red) and EGFP (green) were studied in the gnotobiotic plant nodulation assay. It was shown that both strains had a wide range of host specificity, including species of different legume genera from two tribes (Galegeae and Trifolieae). The effects co-microsymbionts on plants depended on the plant species and varied from decrease, no effect, to increase in the number of nodules, nitrogen fixing activity and plant biomass. One of the reasons for this phenomenon may be the discovered complementarity in co-microsymbionts of symbiotic genes responsible for the specific modification of Nod-factors and nitrogenase activity. It can be concluded that the strains *M. kowhainii* Ach-343 and *M. japonicum* Opo-235 demonstrate lack of high symbiotic specificity that is characteristic for primitive legume-rhizobia systems. Further study of the root nodule bacteria having complementary sets of symbiotic genes will contribute to clarify the evolutionary paths of legume-rhizobia relationships and the mechanisms of effective integration between partners.

**Acknowledgements:** This work was supported by the Russian Science Foundation (grant 16-16-00080 for microbiology and molecular work; grant 17-76-30016 for photography of nodules and bio-informatics work; grant 16-16-10035 for confocal microscopy of root nodules, and grant 17-14-01363 for obtaining of fluorescent-labeled strains). Deposition of strains in the RCAM collection was supported by the Program for the Development and Inventory of Bioresource Collections.

## МАЛЕНЬКИЕ ОРГАНИЗМЫ ДЛЯ БОЛЬШИХ ВЫЗОВОВ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Синеокий С. П.

*БРЦ ВКПМ ФГБУ "Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра "Курчатовский институт",*

БРЦ ВКПМ является национальным биоресурсным центром в области микробных биоресурсов биотехнологического назначения. В современной промышленной биотехнологии используются специально сконструированные микробные продуценты разнообразных промышленно-ценных веществ. К подобным продуцентам предъявляются повышенные требования, определяющие экономическую эффективность биотехнологий и их биобезопасность. Промышленные штаммы-продуценты создаются с использованием методологии генетической и метаболической инженерии, широкого разнообразия микробных генетических ресурсов. Основная задача БРЦ ВКПМ – выполнение инфраструктурных функций важных для развития промышленной биотехнологии, включающих формирование и обеспечение регулируемой доступности национального коллекционного фонда микробных биоресурсов биотехнологического назначения, используемого в различных прикладных и исследовательских целях. Среди приоритетных задач БРЦ ВКПМ - стандартизация штаммов микроорганизмов, использующихся в промышленности, в целях обеспечения защиты прав интеллектуальной собственности и биобезопасности, а также развитие нормативной базы, регулирующей оборот микробных биоресурсов биотехнологического назначения.

## СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ КОЛЛЕКЦИЯ АЛКАНОТРОФОВ: СОВРЕМЕННЫЙ СТАТУС, ХАРАКТЕРИСТИКА И ЭВОЛЮЦИЯ

Ившина И.Б.<sup>1,2</sup>, Куюкина М.С.<sup>2</sup>, Криворучко А.В.<sup>1,2</sup>, Елькин А.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Россия, 614081 Пермь, ул. Голева, 13; <sup>2</sup>Пермский государственный национальный исследовательский университет, Россия, 614990 Пермь, ул. Букирева, 15  
[ivshina@iegm.ru](mailto:ivshina@iegm.ru)

Авторы много лет занимаются бактериологией деградации углеводов, поиском и изучением новых штаммов-нефтедеструкторов и путей их длительной биотехнологической эксплуатации. Хорошо знакомы с коллекционной работой и в настоящем сообщении делают попытку акцентировать внимание потенциальных пользователей к биоресурсам специализированной коллекции микроорганизмов, выделенных из многих ареалов их обитания с охватом контрастных эколого-климатических зон. Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, [www.iegmcol.ru](http://www.iegmcol.ru), <http://www.ckp-rf.ru/usu/73559>, [www.ckp-rf.ru/ckp/](http://www.ckp-rf.ru/ckp/)) – член Всемирной федерации коллекций культур (World Federation for Culture Collections, WFCC, [www.wfcc.info](http://www.wfcc.info)), Европейской организации коллекций культур (European Culture Collections' Organisation, ECCO, [www.eccosite.org](http://www.eccosite.org)), Исследовательской инфраструктуры микробных ресурсов (Microbial Resource Research Infrastructure, MIRRI, [www.mirri.org](http://www.mirri.org)), Общеευропейской сети микробиологических ресурсов ризосферы (Pan-European Rhizosphere Resources Network, PERN, [www.pern-brio.eu](http://www.pern-brio.eu)) [1, 2]. Программа исследований включает различные направления работы – от адекватного сбора природного материала, выделения доминантных видов, выявления механизмов адаптации бактерий к экстремальным факторам среды до расшифровки геномов, анализа функциональных генов ключевых биоокислителей и собрания референтной коллекции биодеструкторов сырой нефти и нефтепродуктов, разработки на их основе бактериальных препаратов углеводородокисляющего действия и природоохранных технологий, максимально приближенных к естественным процессам. Ядро коллекции составляют актинобактерии рода *Rhodococcus*, выделяющиеся среди других микроорганизмов наибольшим разнообразием деградируемых поллютантов. Разработана технология восстановления нефтезагрязненных почв в регионах с холодными климатическими условиями, которая прошла испытания на территории Пермского края и может быть тиражирована на предприятиях нефтегазовой отрасли. На основе иммобилизованных родококков получены катализаторы с гарантированной функциональной активностью, пригодные не только для нефтяной ремедиации, но и биоконверсии фармполлютантов – новой быстро увеличивающей свое негативное значение группы опасных эмерджентных загрязнителей. Обсуждаются проблемы дальнейшего развития коллекции, в том числе совершенствования информационного обеспечения и кадрового потенциала.

[1]. Declerck S. et al., PERN: an EU–Russia initiative for rhizosphere microbial resources. // 2015, Trends Biotechnol., V. 33(7), P. 377–380.

[2]. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Specialized microbial resource centers: a driving force of the growing bioeconomy // 2018, In: Microbial Resource Conservation. Editors: Sushil K. Sharma and Ajit Varma / Soil Biology. Springer, V. 54, P. 111–140 (451 pp.).

**Благодарности:** Работа выполнена при частичной поддержке Государственного задания по биоресурсным коллекциям, а также РФФИ (17-44-590567, 18-29-05006).

## ОМИКСНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА БАЗЕ БИОКОЛЛЕКЦИИ ПАЦИЕНТОВ С АКУШЕРСКИМИ ПАТОЛОГИЯМИ

ГЛОТОВ А.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГНБУ «НИИ АГиР им.Д.О.Отта», Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия д.3,

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7-9

[anglotov@mail.ru](mailto:anglotov@mail.ru)

После триумфальной расшифровки генома человека дальнейшее развитие подходов к анализу индивидуальных биологических особенностей и факторов риска требует развития таких направлений, как индивидуальная и популяционная геномика, транскриптомика, и протеомика. Критическим элементом для такого исследования является наличие большой выборки индивидуальных проб документированного происхождения, доступных для молекулярно-генетического и биохимического анализа высокой разрешающей способности.

Огромное значение для России сегодня представляет изучение здоровья матери и ребенка. Однако неуклонный рост частоты осложнений беременности создает серьезную медицинскую и социальную проблему. Одним из наиболее частых осложнений беременности являются преэклампсия, гестационный сахарный диабет, СЗРП, играющие важную роль в перинатальной заболеваемости и смертности. Для обеспечения потребностей проведения фундаментальных и прикладных научных исследований с использованием современных молекулярно-генетических методов в областях, связанных с проблемами репродукции человека, в том числе в областях акушерства, гинекологии, неонатологии, была создана биоресурсная коллекция «Коллекция биообразцов пациентов с акушерскими патологиями», не имеющая аналогов в Российской Федерации.

Биоресурсная коллекция включает в себя образцы венозной крови (цельная кровь, плазма, лейкоцитарная пленка и сыворотка крови), пуповинной крови (цельная кровь, плазма, лейкоцитарная пленка и сыворотка крови) и биоптатов плацентарной ткани женщин с различной акушерской патологией (преэклампсия, гестационный сахарный диабет, хроническая плацентарная недостаточность и т.д.) и с неотягощенным течением беременности. Сбор биологического материала проводится в соответствии с разработанными стандартными операционными процедурами (СОП).

Результаты исследований, проведенных на биологическом материале, полученном в рамках созданной биоресурсной коллекции, уже позволили внести вклад в представление о молекулярно-генетических механизмах развития различных осложнений беременности, включая полногеномное исследование основного гена преэклампсии – *ACVR2A*.

**Благодарности:** Биообразцы для исследований собраны в рамках проекта 0558-2017-0045 ФГБНУ «НИИ АГиР им.Д.О. Отта». Работа выполнена на базе Лаборатории пренатальной диагностики, РЦ «Биобанк» и «МиКТ» Научного Парка СПбГУ. Исследования выполнены частично при поддержке гранта РФФ №14-50-00069.

## ОМИКСНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОРЕСУРСОВ

Пельтек С.Е. \*, Старостин К.В., Ершов Н., Ефимов В.М., Шляхтун В.Н., Мещерякова И. А., Банникова С. В., Розанов А. С., Брянская А.В., Демидов Е.А.

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск, пр.ак.Лаврентьева,10

[peltek@bionet.nsc.ru](mailto:peltek@bionet.nsc.ru)

Коллекция микроорганизмов ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» создана в целях поиска новых перспективных штаммов для целей биотехнологии. Общая численность штаммов в коллекции – более 3000. Большинство из них выделено сотрудниками ФГБНУ «ФИЦ ИЦиГ СО РАН» из уникальных природных экстремальных экосистем.

Проведено описание ключевых молекулярно-генетических и фенотипических характеристик штаммов коллекции. Подготовлены паспорта штаммов коллекции. Установлены особенности роста штаммов на разных средах, проведено изучение морфологии клеток. Штаммы охарактеризованы по морфологическим, физиологическим, молекулярно-генетическим и масс-спектрометрическим характеристикам. Преимущественное большинство штаммов обладает выраженной протеолитической, амилолитической и липолитической активностями.

Метод идентификации микроорганизмов с помощью МАЛДИ времяпролетной масс-спектрометрии, являясь крайне эффективным по параметрам производительности, скорости и точности анализа, существенно ограничен в использовании из-за отсутствия общедоступной базы данных референсных масс-спектров. Решением данной задачи является создание интернет-платформы для работы с открытыми базами белковых профилей микроорганизмов. Создана альфа-версия базы данных референсных масс-спектров, состоящая из 30 тестовых штаммов. Алгоритм обработки и анализа масс-спектрометрических данных реализован в виде R-скрипта и является основой математической части интернет-платформы для работы с масс-спектрометрическими данными. Все исходные данные и R-скрипт альфа-версии базы данных доступны по адресу [www.bionet.nsc.ru](http://www.bionet.nsc.ru). Показана его эффективность для разделения двух близкородственных видов, относящихся к *Vacillus pumilus* group. Разработанный подход обеспечивает высокую точность и селективность идентификации штаммов микроорганизмов по их масс-спектрометрическим характеристикам.

## ГЕНОМНЫЕ ПРОЕКТЫ НА БАЗЕ БИОБАНКА НИИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ ТОМСКОГО НИМЦ

Харьков В.Н. , Степанов В.А.

*«Научно-исследовательский институт медицинской генетики», Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Российская Федерация, Томск, 634050, ул. Набережная реки Ушайки, д.10*

*[vladimir.kharkov@medgenetics.ru](mailto:vladimir.kharkov@medgenetics.ru)*

Биоресурсная коллекция (БК) «Биобанк населения Северной Евразии» является коллекцией биологического материала, собранного в течение более трех десятилетий деятельности Томского научно-исследовательского института медицинской генетики, входящего сегодня в Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН. Коллекция состоит из выборок биологических образцов, собранных в ходе популяционных, эпидемиологических, клинико-генетических, клинических и иных исследований, собранных в соответствии с базовыми принципами сбора биологических образцов. БК включает около 80000 биообразцов человека: образцы ДНК, крови и других тканей, в том числе тканей пациентов с различными заболеваниями и тканей эмбрионов человека (как нормально развивающихся, так и с нарушениями развития).

По некоторым позициям БК является уникальной как для России, так и на мировом уровне. В частности, уникальным свойством является ее универсальность: в то время как большинство существующих коллекций биоматериала человека направлены либо на медицинские, либо на популяционно/эволюционно-генетические исследования, «Биобанк населения Северной Евразии» содержит материал для исследований в различных областях генетики человека и медицинской генетики.

На основе биобанка институтом и его колабораторами проводятся научные исследования по крупным геномным проектам, связанным с анализом “больших данных”, включая проекты «Российские геномы», «Разработка инновационных геногеографических и геномных технологий идентификации личности и индивидуальных особенностей человека на основе изучения генофондов регионов Союзного государства», «Популяционная геномика и транскриптомика человека: поиск сигналов не-нейтральной эволюции», а также работы в рамках выполнения государственного задания, грантов РФФИ, РНФ, фундаментальных и поисковых научных исследований. Налажена работа и обмен материалом в рамках выполнения совместных научных проектов с другими научными учреждениями.

Томский НИМЦ располагает самой большой в России уникальной коллекцией образцов ДНК коренных народов Сибири, что дает возможность успешной конкуренции с мировыми лабораториями в этом перспективном направлении популяционных исследований. Для пополнения популяционной части БК регулярно проводятся экспедиции по сбору образцов крови представителей различных этносов Европейской части России, Сибири, Дальнего Востока.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-29-13045-мк.

## TWIN METHOD IN (EPI)GENOMICS, OMICS AND BIOMARKER RESEARCH

Odintsova V.V.<sup>1,2</sup>, Van Dongen J.<sup>1</sup>, Boomsma DI

<sup>1</sup>*Vrije Universiteit, the Netherlands, Van der Boechorststraat 7-9, 1081 BT Amsterdam*

<sup>2</sup>*Kulakov National Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of Ministry of Health of Russian Federation*

<sup>3</sup>*Federal Research Institute for Health Organization and Informatics of Ministry of Health of Russian Federation*

*veronika.od@gmail.com*

The classical twin design includes mono- and dizygotic (MZ and DZ) twin pairs reared together, the resemblance for one or more human traits is compared between MZ and DZ twins to obtain estimates of heritability [1]. A larger resemblance in MZ twins is consistent with genetic influences on the trait under study. For heritable traits, the comparison of discordant MZ twins represents a powerful improvement over the traditional case-control study to search for disease-associated biological marks, disease-causing mutations and for studying various other newly emerging phenotypes (the epigenome, transcriptome, metabolome, proteome, and microbiome) [2]. Classical twin methods in combination with molecular genetic methods permit to identify genes, copy number variants, biomarkers and metabolites that are associated with disease, and to test for interaction of the environment with a candidate gene.

Epigenetic modification of the DNA code can sometimes explain the discordance within MZ twin pairs. Differences in DNA methylation and gene expression are already evident in newborn MZ twins. Environmental and stochastic factors start in utero and operate throughout life. Studies of Alzheimer's disease, autism, bipolar disorder, cancer and systemic lupus erythematosus demonstrated the promise of the discordant twin design for epigenetics. Many twin registries all over the world have collected biological samples in different time points, and this allows for identifying epigenetic differences between twins that were present before the onset of discordance for some diseases. Longitudinal phenotypic information together with biological material collected by worldwide twin registries is an important resource for large-scale molecular and epidemiologic studies.

Twin registers have a great potential to contribute to understanding in nearly all areas related to human health and behavior. Population-based registers, when representative of the general population, are of enormous epidemiological interest. The unique characteristics of twin studies, including the ability to control both genetic and shared environmental background, allow for addressing questions that are not easily solved in any other research design and make them very useful for gene-environment transaction research or causal inference studies of common disease [3].

### References

[1] Boomsma D, Busjahn A, Peltonen L. Classical twin studies and beyond. *Nat Rev Genet.* 2002;3(11):872-82

[2] van Dongen J, Slagboom PE, Draisma HH, Martin NG, Boomsma DI. The continuing value of twin studies in the omics era. *Nat Rev Genet.* 2012 Sep;13(9):640-53.

[3] Odintsova VV, Willemsen G, Dolan CV, Hottenga JJ, Martin NG, Slagboom PE, Ordoñana JR, Boomsma DI. Establishing a Twin Register: An Invaluable Resource for (Behavior) Genetic, Epidemiological, Biomarker, and 'Omics' Studies. *Twin Res Hum Genet.* 2018 Jun;21(3):239-252.

## РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ КОНСОРЦИУМ ПО ПСИХИАТРИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКЕ: КРИТИЧЕСКАЯ РОЛЬ БИОБАНКИНГА ДЛЯ РАЗВИТИЯ ПОПУЛЯЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Кибитов А.О.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П.Сербского» Минздрава России, Россия, Москва, Кротова пер.д.23

[druggen@mail.ru](mailto:druggen@mail.ru)

В ноябре 2017г. был учрежден Российский национальный консорциум по психиатрической генетике, РНКПГ) (Russian National Consortium for Psychiatric Genetics, RNCPG, ). В составе консорциума - ученые и врачи ведущих научных психиатрических учреждений России: «Научный центр психического здоровья РАН» и «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» ( г.Москва), «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии имени В.М. Бехтерева» и Санкт-Петербургский государственный университет, (г.Санкт-Петербург), Научно-исследовательский институт психического здоровья ФГБНУ "Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН", (г.Томск), Институт биохимии и генетики Уфимского научного Центра РАН (г.Уфа), Приволжский Исследовательский Медицинский Университет (г.Нижний Новгород), Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины РАН (г. Новосибирск).

Целью Консорциума является изучение генетических основ психических заболеваний в российской популяции для повышения эффективности их профилактики и лечения. В состав консорциума входят психиатры-клиницисты, что обеспечивает взаимодействие клинического и биологического звена исследования на всех этапах: от планирования и набора участников до анализа данных и клинической интерпретации результатов с оценкой практической значимости и возможностей адекватной трансляции. Консорциум создан как открытая система для любых коллабораций как в России, так и международных проектов.

Технологическим ядром Консорциума является Биобанк СПбГУ, где предполагается сбор, хранение и обработка биоматериала Консорциума, включая генотипирование, анализ генома и транскриптома, метаболомика, анализ широкой панели лабораторных показателей.

Важнейшая задача Консорциума - развитие широкомасштабных популяционных генетических исследований в области психического здоровья, требующих больших выборок. Современные технологии биобанкинга являются критическими для создания коллекций образцов биоматериала популяционного уровня, их качественного анализа и хранения. Важным представляется опыт организации единого центра для логистики, хранения, систематизации и процессинга образцов на основе современного биобанка в рамках национальных генетических проектов.

## СОЗДАНИЕ БИОБАНКА БИОМАТЕРИАЛА ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТОМ II ТИПА В РАМКАХ ПРОЕКТА ЭСТОНСКО- РОССИЙСКОГО ПРИГРАНИЧНОГО СОТРУДНИЧЕСТВА

Насыхова Ю. А.<sup>1,2</sup>, Серебрякова Е. А.<sup>2</sup>, Михайлова А. А.<sup>1</sup>, Глотов А. С.<sup>1,2</sup>

1 ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация, Университетская набережная, 7-9

2 ФГБНУ «НИИ Акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург, Российская Федерация, Менделеевская линия, д. 3

[y.nasykhova@spbu.ru](mailto:y.nasykhova@spbu.ru)

В рамках программы Эстонско-Российского приграничного сотрудничества (Estonia-Russia CBC Programme) в настоящее время запущен и реализуется проект «Development of measures for improving the quality of diagnosis and prevention of type 2 diabetes», целью которого является выявление генетических причин развития диабета 2 типа (СД2) и генетических маркеров риска осложненного течения изучаемой патологии у пациентов русской этнической принадлежности, а также разработка подходов эффективной диагностики и профилактики СД2 в Эстонии и России. Проект выполняется при сотрудничестве Санкт-Петербургского государственного университета, Университета г. Тарту, Псковского государственного университета и ООО «Биогармония». Ассоциированным партнером выступает Ассоциация специалистов в области молекулярной медицины, медицинской и лабораторной генетики им. Е.И.Шварца. В рамках первого этапа проекта создается биобанк образцов различного биологического материала пациентов с сахарным диабетом 2 типа русской этнической принадлежности, проживающих в Северо-Западном регионе России. Для решения этой задачи были разработаны клинические критерии включения в группы исследования, анкеты, протоколы сбора, обработки и хранения биообразцов, формы информированного согласия. Реализация комплексного подхода к реализации данного этапа проекта позволит наряду со созданием уникальной коллекции биообразцов с ассоциированной медицинской информацией в дальнейшем осуществить поиск новых биомаркеров СД2 и его осложнений.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Estonia-Russia CBC Programme.

## БИОБАНКИ, КАК КЛЮЧЕВОЙ ИНСТРУМЕНТ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

Апалько С.В.<sup>1</sup>, Сарана А.М.<sup>2</sup>, Макаренко С.В.<sup>1</sup>, Уразов С.П.<sup>1</sup>, Щербак С.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>СПб ГБУЗ «Городская больница №40», Россия, Сестрорецк, Санкт-Петербург, ул.Борисова, 9; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

[Svetlana.apalko@gmail.com](mailto:Svetlana.apalko@gmail.com)

Основная цель биобанков (человеческих) – сбор и хранение высококачественных хорошо охарактеризованных биообразцов человека и связанных с ними данными (клиническими, лабораторными, экспериментальными) в структурированном и анализированном виде для распространения среди ученых, включенных в этические и правовые рамки.

В данном докладе будет представлен нозологический биобанк, организованный на базе СПб ГБУЗ «Городская больница №40», рассмотрены основные задачи данного биобанка и ключевые принципы, реализация которых, будет способствовать интенсивному развитию трансляционных исследований, и как следствие, переходу к персонализированной медицине.

## НА ПУТИ К СОЗДАНИЮ НАЦИОНАЛЬНОГО БИОБАНКА РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН: ПРАВОВОЕ И ЭТИЧЕСКОЕ РЕГУЛИРОВАНИЕ

Исаева Р.Б.<sup>1</sup>, Кожамкулов У.А.<sup>2</sup>, Исабаева К.К.<sup>3</sup>, Дюйсенова Ж.С.<sup>4</sup>, Жабагин М.К.<sup>4</sup>,  
Абзалиева С.А.<sup>1</sup>, Алиакпарова А.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный университет имени Аль-Фараби, Казахстан, Алматы, 050000;

<sup>2</sup>National Laboratory Astana, Назарбаев Университет, Казахстан, Астана, 010000;

<sup>3</sup>School of science and technology, Назарбаев Университет, Казахстан, Астана, 010000;

<sup>4</sup>Национальный центр биотехнологии, Казахстан, Астана, 010000

[issayeva\\_raushan@inbox.ru](mailto:issayeva_raushan@inbox.ru)

Персонализированная медицина считается панацеей для современного общества. Однако переход к ней требует комплексное развитие омиксных технологий (геномика, протеомика, метаболомика, эпигеномика, феномика), системную медицину, биоинформатику и развитие биобанков. Стоит отметить, что международный комитет по биоэтике ЮНЕСКО отводит к биобанкам роль главного инструмента персонализированной медицины. Учитывая, что генофонды разных популяций из различных регионов могут отличаться друг от друга, развитие персонализированной медицины диктует необходимость детального изучения генетического разнообразия во всех популяциях и создавать для этого геномные биобанки.

Перед Республикой Казахстан стоит задача создания национального биобанка на примере Британского опыта – проспективного когортного популяционного биобанка. Создание и развитие национального биобанка предполагает острую необходимость совершенствования их правового регулирования на отечественном законодательном уровне. К сожалению, сам термин «биобанк» в информационно-правовой системе нормативных правовых актов Республики Казахстан появился только в 2015 году, тогда как еще в 2009 году биобанк был признан как «одно из десяти влиятельных идей меняющих мир сегодня». Тем не менее, определение термина «биобанк» внесено на рассмотрение в Кодекс Республики Казахстан "О здоровье народа и системе здравоохранения" только в прошлом 2018 году. Парадокс заключается в том, что хоть и правовая деятельность биобанков не урегулирована, государственные программы ставят меры по созданию биобанков уже с 2016 года. С целью исправить сложившиеся пробелы в правовом и этическом регулировании биобанков в прошлом 2018 году была создана рабочая группа по разработке нормативных правовых актов по вопросам деятельности биобанков.

Мы в свою очередь для решения выше указанных проблем, провели анализ актуальной информации по международному опыту регулирования деятельности биобанков, в частности детально рассмотрев ключевые аспекты этических норм и регулирования Биобанка Соединенного Королевства Великобритании и Ирландии, которые предлагаем обсудить и учесть в качестве будущих рекомендаций как Казахстанскому законодательству, так и в интеграции по регулированию деятельности биобанков Евразийского экономического сообщества.

**МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «ХЛЕБА БУДУЩЕГО:  
ГЕНОМИКА, ГЕНЕТИКА, СЕЛЕКЦИЯ»**

**(В ознаменование 125-летия Федерального исследовательского центра  
«Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И.  
Вавилова» – ВИР) /**

**INTERNATIONAL CONFERENCE ‘BREADS OF THE FUTURE:  
GENOMICS, GENETICS, BREEDING’**

**(Devoted To 125 Years Of Federal Research Center ‘Vavilov All-Russian  
Institute Of Plant Genetic Resources’ – Vir)**

**Открытие и пленарная сессия конференции / Opening and Conference  
plenary session**

**GLOBAL VISION FOR BREAD WHEAT RESEARCH**

Langridge P.

*Wheat Initiative, Berlin-Dahlem, Germany and University of Adelaide, Australia*

Created in 2011 following endorsement from the G20 Agriculture Ministries, the Wheat Initiative provides a framework to establish strategic research and organisation priorities for wheat research at the international level in both developed and developing countries.

The vision of the Wheat Initiative is to support a vibrant global wheat research community sharing resources, capabilities, data and ideas to improve wheat land productivity, quality and sustainable production. To achieve this the Wheat initiative:

- ~ Provides a framework to establish strategic research and organisation priorities for wheat research at the international level in both developed and developing countries.
- ~ Fosters communication between the research community, funders and global policy makers.
- ~ Aims to secure efficient and long-term investments in wheat research.
- ~ Develops and coordinates knowledge sharing amongst the wheat community.
- ~ Improves access of all to resources, services and facilities.
- ~ Supports education of students and life-long learning of researchers and farmers
- ~ Stimulates public-private collaborations.

## ВКЛАД ГЕНЕТИКИ В «ЗЕЛЕННЫЕ ПРОРЫВЫ» В СЕЛЕКЦИИ

Беспалова Л.А.

ФГБНУ «НЦЗ им.П.П. Лукьяненко», Россия, г. Краснодар, 350012, п/о-12, Центральная усадьба КНИИСХ

[bespalova\\_l\\_a@rambler.ru](mailto:bespalova_l_a@rambler.ru)

Основным принципом селекции пшеницы в НЦЗ им. П.П. Лукьяненко является способность генотипа, а в последние 15-20 лет – генофонда сортов «доминировать над средой» (по выражению Н.И. Вавилова).

Это стратегия прослеживается в течение всей, почти 100 летней селекции. В 20-х – 40-х годах XX века скрещивание эколого-географически отдаленных форм, индивидуальный отбор в поле по элементам разработанной модели будущего сорта, система оценки экологической устойчивости во времени обеспечили доминирование созданных сортов на Юге СССР. Новые аллели редукции высоты растений, аттракции в сортах с широкими приспособительными и компенсаторными возможностями 50-х – 60-х годов обеспечили глобальное распространение сортов (Безостая 4, Безостая 1, Кавказ, Аврора и др.) до 18 млн. га ежегодно. По мнению многих ученых, в т.ч. Марка Таугера [1], это была «зеленая революция» параллельно с такой же нобелевского лауреата Нормана Барлауга.

В 60-е – 80-е годы для создания исходного материала широко применялся химический мутагенез, получение хромосомно и геномно замещенных линий, проводились исследования по созданию гибридов пшеницы. Полученные мутанты (Краснодарский карлик, Карлик Истока, с редуцированным и луковичным листом, хлорофильными изменениями) позволили конструировать растения и агрофитоценозы с принципиально новой архитектурой, с экономным расходом ресурсов среды и потенциальной урожайностью 10-12 т зерна с 1 га.

Расширение масштабов селекции, ее преадаптивной направленности, агроэкологической адресности, смена парадигмы предбридинга дает нам новые возможности как увеличения потенциальной урожайности (до 14 т/га) (и реальной в производстве до 10-10,5 т/га), так и увеличения адаптивного потенциала культуры (озимой пшеницы) во времени и пространстве.

[1]. М.Б. Таугер Павел Пантелеймонович Лукьяненко и Зеленая революция в Советском Союзе / М.Б. Таугер // Историко-биологические исследования.- 2015- том 7, №4.

**Сессия I. Изучение и использование генетических ресурсов / Session I.  
Evaluation and use of genetic resources**

**PLANT GENOMIC RESOURCES: FROM CONSERVATION TO  
INNOVATION**

Graner A.

Understanding crop plant genomes at the structural and functional level is of critical importance for both conservation and valorization of Genetic Resources. In this context, my research has been settled at the forefront of plant breeding by developing genomic tools, mapping of agronomic traits and identifying the underlying genes in barley and wheat. In addition, new ways are being explored to deploy genomic information for the advancement both conservation management and utilization of ex situ collections.

## NEW APPROACHES TO EVALUATION OF CEREALS GENETIC RESOURCES

Loskutov I.

*Federal Research Centre N.I. Vavilov Institute Plant Genetic Resources (VIR), St-Petersburg, Russia; Sankt-Petersburg State University, St-Petersburg, Russia*

*[i.loskutov@vir.nw.ru](mailto:i.loskutov@vir.nw.ru)*

The evaluation of cereals genetic resources is important for the selection of source material for plant breeding. Recently, the most important directions of breeding for barley and oats are, in addition to grain productivity, grain characters associated with functional properties of quality. The traditional directions of breeding these crops are increasing the content of protein, lysine and starch, and the dietary properties of grain are now in demand. The grain quality of oats and barley depends on the resistance to fungal diseases. Diseases not only reduce the grain productivity of crops, but also worsen crop quality due to the accumulation of toxic metabolites. Fusarium of grain – a disease that, first of all, significantly reduces the quality of products and their safety. Mycotoxins that accumulate in the kernels reduce the consumer properties of these crops and, when used, adversely affect human and animal health. Many researchers note that naked varieties of oats and barley are more resistant to grain damage by fusarium and less accumulate mycotoxins.

When studying samples of oats of grain contrasting in parameters of resistance to fusarium (joint work with VIZR) on protein content, oil, fatty oil composition, an negative correlation relationship was found between protein content in oat grain, linolenic acid content in oat oil and infection with fusarium. Conducting joint research with the Department of Biochemistry and Molecular Biology of VIR on biochemical characteristics allowed us to identify high-quality genotypes of barley and oats. The results of metabolic analysis revealed a variety of spectra at the species and intraspecific levels. It was found that naked oat varieties had large total indicators for organic, fatty and amino acids, sterols, disaccharides and total sugars, and covered varieties had high values only for monoacylglycerols, polyatomic alcohols and monosaccharides. A large variety of metabolic spectra was found at the species level of cultivated oats and between varieties of different levels of breeding. Thus, varieties of barley and oats with increased level of economically valuable traits and quality parameters of grains, such as increased content protein, oils with well-balanced fatty acid composition and micronutrients, as well as resistance to fusarium infection and free from mycotoxins, can be sources for breeding of new varieties to improve the quality of grain for the production of safe high-quality, dietary and functional foods.

The studies were performed in 2014–2016 due to the grant of the Russian Scientific Foundation (project No. 14-16-00072) and in 2017-2019 due to the grant from the Russian Foundation for Basic Research (project No. 17-00-00338).

## SPATIAL AND TEMPORAL ADAPTATION OF A WILD EMMER WHEAT POPULATION UNDER CLIMATE CHANGE—A CASE STUDY FOR *IN SITU* CONSERVATION

Dahan-Meir T<sup>1</sup>., Sela H<sup>2</sup>., Melamed-Bessudo C. <sup>1</sup>, Avivi-Ragolsky N<sup>1</sup>., A. Raz<sup>1</sup>, M.Feldman<sup>1</sup>, Y.Anikster<sup>2</sup>, A.A. Levy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant and Environmental Sciences, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel.<sup>2</sup>The Institute for Cereal Crops Improvement, Tel-Aviv University, Tel Aviv, Israel.

Understanding the impact of climate change on biodiversity and food security is one of the major challenges of the 21<sup>st</sup> century. The fertile crescent, including Israel in the Southern Levant, is one of the centers of origin of wheat, which is a staple food for billions of people. We characterized the natural wild emmer wheat (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*) population of Ammiad, in Northern Israel. This population has been investigated for the past 34 years as an *in-situ* conservation case study, a period during which temperatures have raised by ~1.5 °C on average in the region and CO<sub>2</sub> levels have raised from ~350 ppm to ~410 ppm. Overall, 100 collection spots were chosen for the analysis. Each spot has been characterized by GPS coordinates and we have returned to the exact collection spots, every ~5 years on average since 1984. In total, eight years of collection were studied between 1984 to 2018. Both the different micro-habitats in the collection area and the long-term collection constitute a unique resource that enables both spatial and temporal genotypic analysis. Results from year 1984 are presented here. Using the Genotyping-By-Sequencing (GBS) method, we obtained 13924 polymorphic markers (excluding markers with more than 10% heterozygosity and with Minor Allele Frequency greater than 0.01), out of which 13340 were SNPs. We found that the population is very diverse: Each plant, diverged from the "Zavitan" wild emmer wheat reference genome by 1 SNP per 367 nucleotides on average, plants in the population diverged from each other by 1 SNP per 639 nucleotides on average and in total the population as a whole contained 1 SNP every 111 nucleotides. Some plants in the population were genetically more distant from each other, within tens or a few hundred meters distance than to the Zavitan accession located ~30 km from Ammiad. We also found that the population is highly structured in genotypic clusters corresponding to micro-niches and providing a strong evidence for micro-adaptation. These findings indicate that when sampling biodiversity in the wild, the collection strategy should take habitat heterogeneity as a major consideration. In Ammiad, slope exposure, ridge of the hills or valley, were more relevant than physical distances. The temporal variation will be discussed.

## NEW INSIGHTS ON THE ADAPTATION OF OLD DURUM WHEAT RESULTING FROM ITS MIGRATION ACROSS THE MEDITERRANEAN BASIN

Royo C., Soriano J.M., Villegas D.

*Sustainable Field Crops Programme,*

*Institute for Food and Agricultural Research and Technology (IRTA), 25298 Lleida, Spain*

*conxita.royo@irta.cat*

Durum wheat originated in the Fertile Crescent (10,000 BP) and spread over the Mediterranean Basin, reaching the Iberian Peninsula in about 7,000 BP. During this migration, natural and human selection processes resulted in the development of local landraces specifically adapted to a diversity of agro-ecological zones. Field evaluation of a collection of 172 durum wheat landraces from 21 Mediterranean countries demonstrated that their agronomic performance was strongly influenced by the climate of the zone of origin [1]. The analysis of the genetic structure of the collection, ascertained with 44 SSR-markers, clustered the accessions in four subpopulations with a clear geographical pattern. Experiments conducted during six crop seasons with a subset of the collection identified contrasting patterns of adaptation in Eastern- and Western-Mediterranean subpopulations, which resulted in different yield formation strategies. Landraces from eastern Mediterranean countries, adapted to the warmest and drier area, flowered earlier and based their yield on water input before anthesis that was beneficial for producing large number of spikes and grains per unit area. In contrast, landraces from the western Mediterranean countries were taller and performed better in environments with high water input during grain filling that efficiently used to increase grain setting and to produce heavy grains. According to a genome wide association study with 1149 DArT markers [2], the genetic bases behind these contrasting adaptation strategies was elucidated by identifying 23 markers associated to those agronomic traits, which showed different allele frequency in landraces from the East and west regions of the Mediterranean Basin [3].

[1]. Royo C., Nazco R., Villegas D., The climate of the zone of origin of Mediterranean durum wheat (*Triticum durum* Desf.) landraces affects their agronomic performance. // 2014, Gen. Res. Crop Evol., V. 61, P. 1345–1358.

[2]. Soriano J.M., Malosetti M., Roselló M., Sorrells M.E., Royo C., Dissecting the old Mediterranean durum wheat genetic architecture for phenology, biomass and yield formation by association mapping and QTL meta-analysis. // 2017, PLoS ONE, Vol. 12: e0178290.

[3]. Soriano J.M., Villegas D., Sorrells M.E., Royo C., Durum wheat landraces from East and West Regions of the Mediterranean Basin are genetically distinct for yield components and phenology. 2018. *Frontiers in Plant Science* Vol. 9 (80).

**Acknowledgements:** This work was partially supported by projects AGL-2006-09226-C02-01, AGL-2009-11187, AGL-2012-37217 and AGL2015-65351 from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness, and the CERCA programme / Generalitat de Catalunya.

**Сессия II. Геномика / Session II. Genomics****IN THE SPIRIT OF VAVILOV – PROVIDING THE GENOMIC CONTEXT  
OF GLOBAL DIVERSITY COLLECTIONS OF WHEAT AND BARLEY**

Stein N.

*Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Germany*

Genome sequences are in place for wheat and barley and even the next step, pan-genome analysis of the two crops has been initiated by international efforts. This is providing us with the genomic framework for cataloging and utilizing the global genome diversity of these important crop species. Thus 100 years after Vavilov we are just about gaining a comprehensive understanding of the globally available natural diversity.

## DURUM WHEAT GENOME REVEALS THE SIGNATURE OF 10,000 YEARS OF SELECTION

Maccaferri M.<sup>1,2</sup>, N. S. Harris<sup>3</sup>, S. O. Twardziok<sup>4</sup>, R. K. Pasam<sup>5</sup>, H. Gundlach<sup>4</sup>, M. Spannagl<sup>4</sup>, D. Ormanbekova<sup>1,4</sup>, T. Lux<sup>4</sup>, V. Prade<sup>4</sup>, S. G. Milner<sup>6</sup>, A. Himmelbach<sup>6</sup>, M. Mascher<sup>6,7</sup>, P. Bagnaresi<sup>8</sup>, P. Faccioli<sup>8</sup>, P. Cozzi<sup>9</sup>, M. Lauria<sup>9</sup>, B. Lazzari<sup>9</sup>, A. Stella<sup>9</sup>, A. Manconi<sup>10</sup>, M. Gnocchi<sup>10</sup>, M. Moscatelli<sup>10</sup>, R. Avni<sup>11</sup>, J. Deek<sup>11</sup>, S. i. Biyiklioglu<sup>12</sup>, E. Frascaroli<sup>1</sup>, S. Corneti<sup>1</sup>, S. Salvi<sup>1</sup>, G. Sonnante<sup>13</sup>, F. Desiderio<sup>8</sup>, C. Marè<sup>8</sup>, C. Crosatti<sup>8</sup>, E. Mica<sup>8</sup>, H. Ozkan<sup>14</sup>, B. Kilian<sup>15</sup>, P. De Vita<sup>2</sup>, D. Marone<sup>2</sup>, R. Joukhadar<sup>5</sup>, E. Mazzucotelli<sup>8</sup>, D. Nigro<sup>16</sup>, A. Gadaleta<sup>16</sup>, S. Chao<sup>17</sup>, J. D. Faris<sup>17</sup>, A. T. O. Melo<sup>18</sup>, M. Pumphrey<sup>19</sup>, N. Pecchioni<sup>2</sup>, L. Milanese<sup>10</sup>, K. Wiebe<sup>20</sup>, J. Ens<sup>20</sup>, Ron P. MacLachlan<sup>20</sup>, J. M. Clarke<sup>20</sup>, A. G. Sharpe<sup>21</sup>, C. S. Koh<sup>21</sup>, K. Y. H. Liang<sup>3</sup>, G. J. Taylor<sup>3</sup>, R. Knox<sup>22</sup>, H. Budak<sup>12</sup>, A. M. Mastrangelo<sup>2</sup>, S. S. Xu<sup>17</sup>, N. Stein<sup>6</sup>, I. Hale<sup>18</sup>, A. Distelfeld<sup>11</sup>, M. J. Hayden<sup>5</sup>, R. Tuberosa<sup>1</sup>, S. Walkowiak<sup>22</sup>, K. F. X. Mayer<sup>4</sup>, A. Ceriotti<sup>9</sup>, C. J. Pozniak<sup>20</sup>, L. Cattivelli<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Department of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy <sup>2</sup> CREA-Research Centre for Cereal and Industrial Crops, Foggia, Italy <sup>3</sup> Department of Biological Sciences, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada <sup>4</sup> Helmholtz Zentrum München, Plant Genome and Systems Biology, Neuherberg, Germany <sup>5</sup> Agriculture Victoria, AgriBio Centre for AgriBioscience, Bundoora, Vic 3083, Australia <sup>6</sup> Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, 06466, Seeland, Germany <sup>7</sup> German Centre for Integrative Biodiversity Research (iDiv) Halle-Jena-Leipzig, Deutscher Platz 5e, 04103 Leipzig, Germany <sup>8</sup> CREA-Research Centre for Genomics and Bioinformatics, Fiorenzuola d'Arda, Italy <sup>9</sup> National Research Council - Institute of Agricultural Biology and Biotechnology, Milano, Italy <sup>10</sup> National Research Council - Institute of Biomedical Technologies, Segrate, Italy <sup>11</sup> School of Plant Sciences and Food Security, Tel Aviv University, Tel Aviv, Israel <sup>12</sup> Montana State University, Bozeman, MT, USA <sup>13</sup> National Research Council - Institute of Biosciences and Bioresources, Bari, Italy <sup>14</sup> Çukurova University, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Adana, Turkey <sup>15</sup> Global Crop Diversity Trust, Bonn, Germany <sup>16</sup> Department of Soil, Plant and Food Sciences, University of Bari Aldo Moro, Bari, Italy <sup>17</sup> United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Edward T. Schafer Agricultural Research Center, Fargo, ND, USA <sup>18</sup> Department of Agriculture, Nutrition, and Food Systems, University of New Hampshire, USA <sup>19</sup> Department of Crop and Soil Sciences, Washington State University, Pullman, WA, USA <sup>20</sup> Crop Development Centre and Department of Plant Sciences, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada <sup>21</sup> Global Institute for Food Security, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada <sup>22</sup> Swift Current Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Swift Current Saskatchewan, Canada

The domestication of wild emmer wheat ~10,000 years ago by early agrarian societies have led to the selection of domesticated emmer and subsequently of durum wheat through a process of selection for non-brittle rachis and free-threshing forms. Durum wheat and became established as a prominent crop only ~1,500-2,000 years ago. We have completed the 10.45 Gb assembly of the 14 chromosomes of the modern DW cultivar 'Svevo' and provides, via comparison with the wild emmer assembly, an account of the genome-wide modifications imposed by 10,000 years of selection and breeding on the genome architecture of tetraploid wheat. The durum wheat genome contains more than 66,000 genes and among them we annotated about 1,500 complete NBS-LRR genes. A number of regions that were under selection during the domestication of wild emmer or the subsequent selection of durum wheat have been identified. Furthermore, we have projected on the durum wheat genome about 1,500 QTLs for morphological phenological and quality traits, grain yield components and disease resistance reported from published biparental mapping or GWAS. The availability of the complete genome of durum wheat will speed up the identification and the isolation of new resistance genes as well as the breeding for high-yielding and more resilient cultivars.

**Сессия III. Потенциал урожайности и эффективное использование генетических ресурсов / Session III. Yield potential and efficient use of genetic resources**

**MOVING NEW AND USEFUL GENETIC VARIATION FROM GENE BANKS TO BREEDING**

Griffiths S.

*Центр Джона Иннеса - JIC, Великобритания*

Combining traditional breeding (crossing best x best) with the exploitation of novel variation allows breeders to produce crop varieties which underpin the UK's £90bn food production chain. However, wheat breeding only exploits 10% of the genetic diversity available. A dilemma comes when crop performance is so advanced that adding new diversity actually reduces overall performance. The UK's Designing Future Wheat (DFW) Breeders Toolkit (DBTK) team proposed a public-private partnership solution to this problem. Exploiting next generation genomics platforms and gene discovery populations we identified useful genetic variation in diverse wheats, which was transferred into elite varieties and tested on multiple commercial field sites for uptake into commercial breeding programmes.

## SELECTION AND CHARACTERIZATION OF A WINTER WHEAT DIVERSITY PANEL

Le Gouis J.<sup>1</sup>, Mini A.<sup>1</sup>, Bouchet S.<sup>1</sup>, Paux E.<sup>1</sup>, Lafarge S.<sup>2</sup>, Derory J.<sup>2</sup>, Balfourier F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INRA-UCA, GDEC, Clermont-Ferrand, France; <sup>2</sup>Limagrain Europe, Chappes, France

*Jacques.le-gouis@inra.fr*

To increase the genetic diversity available to breed for adaptation to climate change, it is necessary to better characterize genetic resources that are maintained in resource centers. The small grain collection hosted at INRA Clermont-Ferrand (France) includes about 14,000 bread wheat accessions and relatives. One of the objectives of the BreedWheat project was to sample a large collection of 4,600 wheat accessions from various origins reflecting the genetic structure of the different wheat gene pools. All these accessions were genotyped with a dense SNP array developed in the project. It was then used to further define a winter genetic panel of about 450 accessions suitable to perform association genetics. The methodology used to select these accessions consisted first in restricting the sample in terms of precocity and height compared to controls. Several statistical algorithms were then tested to define the optimal sample maximizing the power of detection in association genetics. After two cycles of seed increase, the panel, named BWP3, was evaluated in the field by the project partners. Several experiments were carried out to characterize the tolerance of the accessions to the major constraints of wheat cultivation: disease resistance (Septoria and Fusarium), drought and nitrogen deficiency tolerance. These data were combined with molecular data to identify the regions of the genome involved in tolerance. The promising accessions and chromosomal regions will be entered in pre-breeding programs to facilitate breeding for adaptation.

**Acknowledgements:** This work was conducted within the Investment for the Future Program (BreedWheat project ANR-10-BTBR-03) supported by the Research National Agency (ANR), FranceAgriMer, the French Funds to support Plant Breeding (FSOV) and INRA. The authors thank the Biological Resource Center on small grain cereals (INRA Clermont-Ferrand) for providing seed samples.

## NON-INVASIVE PHENOTYPING REVEALS STRESS-ADAPTIVE AND CONSTITUTIVE BIOMASS QTL IN CEREALS

Neumann K.<sup>1</sup>, Grieco M.<sup>1</sup>, Zhao Y.<sup>1</sup>, Chu J.<sup>1</sup>, Dhanagond S.<sup>1</sup>, Reif J.<sup>1</sup>, Graner A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IPK Gatersleben, Germany, Seeland OT Gatersleben, Corrensstrasse 3; <sup>2</sup>Affiliation 2  
[neumannk@ipk-gatersleben.de](mailto:neumannk@ipk-gatersleben.de)

Grain yields in Europe are stagnating also due to climate change, which is leading to an increased frequency of droughts and heat periods. Modern varieties are bred for high performance and often have a lower stress tolerance. Plant genetic resources can still carry gene variants that increase abiotic stress tolerance. Once these have been identified they can be introduced into elite material for enhancing stress tolerance to ensure future yields. With the help of daily non-invasive phenotyping via imaging it is possible to quantify many different effects of abiotic stress at once [1]. Through controlled irrigation and in controlled greenhouse conditions, different scenarios of drought or heat stress can be explored. The large number of phenotypic traits obtained from image analysis allows deep insights into the reactions of plants to stress. The effects of drought stress on plant growth are first visible in reduced growth rates; only when drought persists for longer a reduction in photosynthesis efficiency can be observed. The point at which growth stops can be determined applying mathematic models to the growth curves. If there is no permanent damage, they recover quickly in growth and photosynthetic efficiency. In combination with molecular information from the latest genotyping techniques in genome-wide association studies (GWAS), quantitative trait loci (QTL) for the various traits were identified in barley and wheat collections. Already for growth under well-watered conditions, different QTLs for early and late developmental stages were identified [2]. By comparing GWAS results of stress and well-watered conditions QTL can be classified as constitutive QTL, stress-adaptive and recovery-adaptive QTL. The regions associated with drought tolerance are screened for the underlying candidate genes and will be further investigated.

[1] Neumann, K., Klukas, C., Friedel, S., et al. (2015). Dissecting spatiotemporal biomass accumulation in barley under different water regimes using high-throughput image analysis. *Plant Cell Environ*, 38, 1980-1996.

[2] Neumann, K., Zhao, Y., Chu, J., et al. (2017). Genetic architecture and temporal patterns of biomass accumulation in spring barley revealed by image analysis. *BMC Plant Biol*, 17, 137.

**Acknowledgements:** This work was supported by Federal Ministry of Education and Research of Germany in the frame of CROP.SENSE.net consortium (FKZ 0315530E), BARSELECT (FKZ 0315969D) and BRIWECS (FKZ 031A354G).

## ЧУЖЕРОДНЫЕ ИНТРОГРЕССИИ У МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ: РАСШИРЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭКОНОМИЧЕСКИ ВАЖНЫХ ПРИЗНАКОВ

Пшеничникова Т.А.

ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Россия, Новосибирск, 630090,  
пр. ак. Лаврентьева, 10

[wheatpsh@bionet.nsc.ru](mailto:wheatpsh@bionet.nsc.ru)

Устойчивое развитие сельского хозяйства в настоящее время встречается с серьёзными вызовами. Они обусловлены как неблагоприятными изменениями климата Земли, так и интенсивной хозяйственной деятельностью человека. Преодоление этих вызовов во многом связано с созданием нового разнообразного генетического материала для селекции. Мягкая пшеница – вторая по значимости продовольственная культура человечества, поэтому её адаптационные возможности нуждаются в постоянном совершенствовании. Источниками востребованного генетического разнообразия являются линии пшеницы с интрогрессиями от диких и малокультуренных сородичей, которые в большом числе созданы в результате генетических исследований отдалённых гибридов. Данное исследование посвящено использованию видов *Aegilops tauschii*, *Ae. speltoides*, *Ae. markgrafii* и *Triticum timopheevii* для поиска генов, определяющих адаптации к засухе и связанных с технологическими свойствами зерна и муки, а также для создания линий-доноров ценных признаков. Использование линий пшеницы с интрогрессиями из генома D *Ae. tauschii* позволило картировать локусы, ассоциированные с функционированием фотосинтетического аппарата в условиях засухи, а также идентифицировать вероятные гены-кандидаты. Из видов *Ae. speltoides* и *T. timopheevii* в мягкую пшеницу были интрогрессированы гены опушения листа, которые существенно влияли на ответные физиологические реакции в условиях водного стресса. Из этих же видов, а также из вида *Ae. markgrafii* в мягкую пшеницу были интрогрессированы гены, определяющие высокое содержание клейковины в зерне. Была определена их хромосомная локализация, а положение на хромосоме было установлено с помощью молекулярных маркёров. Созданы и испытаны в полевых условиях линии – доноры этого важного признака. Из вида *Ae. speltoides* был введён новый доминантный ген структуры эндосперма зерновки, определяющий мягкозёрность. В комбинации с аналогичным геном пшеницы были получены супермягкозёрные линии, пригодные для целей кондитерской промышленности и дистилляции спиртов. Таким образом, линии с чужеродными интрогрессиями являются надёжным резервом генов для улучшения сортов пшеницы по комплексу экономически важных признаков.

Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ №18-04-00481, РФФИ\_офи №17-29-08028 и бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН №0259-2018-0018

**Сессия IV. Улучшение устойчивости к факторам биотического и абиотического стресса / Session IV. Improving of resistance to biotic and abiotic stress**

**BREEDING FOR RESISTANCE – CORNERSTONE FOR FUTURE CEREAL PRODUCTION**

Ordon F.

*Julius Kühn-Institute (JKI), Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Germany*

Wheat and barley are of special importance for feeding the earth's growing population. However, both are hit by many pathogens causing severe yield losses and both suffer from increasing drought, worldwide. Therefore, in order to ensure a sufficient cereal production, improving resistance to biotic and abiotic stress is of prime importance. In this respect, genetic resources are a valuable treasure trove to cope with these challenges of the future. To use the genetic diversity present in gene banks, it is essential (i) to screen genetic resources for traits of interest, (ii) develop molecular markers for these traits and (iii) use these for an enhanced introgression into adapted cultivars. While in the past marker development was time consuming and laborious, today genomic resources like the Infinium iSelect genotyping bead chips, genotyping by sequencing (GBS) and the availability of reference sequences facilitate efficient marker development for major genes and QTL and pave the way for enhanced gene isolation. The isolation of genes involved in these traits will transfer breeding to the allele level and will facilitate the sequenced based identification of novel alleles in large gene bank collections and their directed use in plant breeding as well as allele editing. Examples of using these genomic tools to harness resistances to fungal (e.g. *P. hordei*, *P. triticina*, *P. teres* etc.) and viral pathogens (BYDV, WDV, BaMMV, BaYMV) as well as for improving the adaptation to climate change are given.

## MOLECULAR ANALYSIS OF FUNCTION AND DIVERSITY OF WHEAT DISEASE RESISTANCE IN THE AGE OF (PAN-)GENOMICS

Keller B.1, , Krattinger S. 2, Kolodziej M1., Wicker T. 1, Sanchez-Martin J. 1.

<sup>1</sup>University of Zurich, Switzerland, Zurich, Zollikerstrasse 107; <sup>2</sup> King Abdullah University of Science and Technology, Kingdom of Saudi Arabia, Thuwal.

[bkeller@botinst.uzh.ch](mailto:bkeller@botinst.uzh.ch)

In the gene pool of wheat, several hundred disease resistance genes have been described genetically. These are mostly genes active against biotrophic pathogens such as rust or mildew, but there are also many genes against necrotrophic diseases. Most of these genes have not been identified and characterized at the molecular level, and there are no highly diagnostic markers available for these genes for wheat breeding. The molecular isolation of genes from the large and repetitive wheat genome has been tedious and costly using the traditional map-based cloning approach. Recent developments in genomics have resulted in more efficient gene isolation [1]. Based on mutational analysis, chromosome-flow sorting and next-generation sequencing, resistance genes can now be identified rapidly and there is a strong increase of the number of cloned genes. Furthermore, the use of wild and domesticated genotypes, landrace collections as well as collections of cultivars has resulted in very efficient gene identification based on genome wide association approaches. The novel tools and approaches now allow the identification of all resistance genes in the wheat gene pool that have been described genetically. It is timely to envisage, plan and coordinate a large international effort to establish a comprehensive overview on the naturally occurring disease resistance genes in the gene pools of cultivated wheat and its wild relatives.

Gene identification largely depends on the recent establishment of the wheat reference genome sequence. Clearly, one reference genome is not sufficient to understand the large diversity of resistance loci in wheat. It was shown in a comparative analysis of complete wheat chromosome sequences that the genomic regions carrying genes encoding putative NLR immune receptors vary widely between two cultivars [2]. Thus, high-quality genome sequences of additional genotypes are essential for rapid progress in resistance gene identification. The 10+ genome project (<https://www.wheatinitiative.org/activities/associated-programmes/10-wheat-genomes-project>) aims at establishing genomes from a variety of cultivated wheat genotypes and represents an essential first step to define the pan-genome of wheat. The identification of a close-to-complete set of resistance genes active against a specific disease will allow wheat breeders to develop better strategies for using and combining genes under specific agricultural conditions [3].

### References

- [1] Keller, B., Wicker, T. and Krattinger, S., Advances in wheat and pathogen genomics: Implications for disease control. // 2018, *Ann. Rev. Phytopathology*, 56: 67-87.
- [2] Thind, A. et al., Chromosome-scale comparative sequence analysis unravels molecular mechanisms of genome dynamics between two wheat cultivars. // 2018, *Genome Biology*, 19:104. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1477-2>
- [3] Sanchez-Martin, J. and Keller, B. Contribution of recent technological advances to future resistance breeding. // 2019, *Theoretical and Applied Genetics*. Online <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03297-1>

**Acknowledgements:** This work was supported by the Swiss Department of Agriculture (BLW, Bern) and the Swiss National Science Foundation.

## THE TETRAPLOID WHEAT GERMPLASM COLLECTION (TGC) UNCOVERS VALUABLE DIVERSITY IN TETRAPLOID WHEAT

Maccaferri M.<sup>1</sup>, Ormanbekova D.<sup>1</sup>, K. Pasam R.K.<sup>2</sup>, Mastrangelo A.M.<sup>3</sup>, Mazzucotelli E.<sup>4</sup>,  
Kilian B.<sup>5</sup>, Ozkan H.<sup>6</sup>, Pecchioni N.<sup>3</sup>, Pozniak C.<sup>7</sup>, Xu S.<sup>8</sup>, Hayden M.<sup>2</sup>, Cattivelli C.<sup>4</sup>,  
Tuberosa R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Agricultural and Food Sciences, University of Bologna, Italy; <sup>2</sup>Dept. of Economic Development, Jobs, Transport and Resources, Agribio Centre, La Trobe Research And Development Park, Bundoora, Vic 3083, Australia; <sup>3</sup>CREA - Research Centre for Cereal and Industrial Crops, Foggia, Italy; <sup>4</sup>CREA - Research Centre for Genomics and Bioinformatics, Fiorenzuola d'Arda (PC), Italy; <sup>5</sup>Global Crop Diversity Trust, Bonn, Germany; <sup>6</sup>Cukurova University, Adana, Turkey; <sup>7</sup>College of Agriculture and Bioresources, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada; <sup>8</sup>USDA-ARS, Cereal Crops Research Unit, Fargo, North Dakota

The domestication of the wild emmer wheat nearly 10,000 years ago in the Fertile Crescent led to the evolution of the free-threshing and easy to harvest tetraploid *Triticum durum* wheat. The recently assembled high-quality reference genome of durum wheat cultivar Svevo and the Global Tetraploid wheat Collection (GTC) comprised of 1,856 accessions, were profiled with the Illumina iSelect wheat 90K SNP array [1]. The GTC includes ten different species and subspecies from various geographical regions and represents the four main germplasm groups involved in the tetraploid domestication and selection history. The GTC was investigated to detect the signatures of genetic divergence in tetraploid wheat germplasm from wild emmer to domesticated modern wheat. Selection signature regions associated with wild emmer domestication and durum wheat evolution were identified on the pericentromeric regions of chromosome groups 2, 4, 6 and on chromosomes 1A, 7B. Several diversity reduction and selection signature peaks overlapped with loci associated with domestication, disease resistance, yellow pigment content and seed dormancy. Population structure of the tetraploid diversity panel assessed with two model and two non-model based clustering methods, subdivided (i) wild emmer (WEW) in two main populations, (ii) domesticated emmer (DEW) and durum landraces (DWL) in six populations each, and (iii) durum cultivars (DWC) in five subpopulations. The modern durum wheat germplasm showed the highest relationship to the North African and Turkey to Transcaucasia DWL populations, while the Ethiopian and *T. turanicum* populations were the most differentiated with a minimal contribution to the modern durum germplasm. Our results suggest that modern durum wheat has been affected by genetic bottleneck/selection events leading to strong diversity depletions. These selection signatures provide a valuable insight into the dynamics of tetraploid wheat domestication. Furthermore, we started to scan the largely untapped natural variation present in this collection for marker/haplotype trait associations and candidate genes associated to resistance to rusts, septoria tritici blotch and grain / spike morphological features. The marker haplotypes identified in this collection can be considered as a framework to extend the diversity analysis to other germplasm collections.

**Acknowledgements:** This work was supported by the Italian Ministry of Education and Research with projects CNR Flagship InterOmics PB05; CREA project Interomics; Fondazione in rete per la ricerca agroalimentare AGER project From Seed to Pasta; FP7-KBBE Project DROPS ID244347 (R.T.); Genome Canada (A.G.S., C.P.); the Saskatchewan Wheat Development Commission (A.G.S.,C.P.); Canadian Triticum Applied Genomics -CTAG2- (A.G.S., C.P.); Binational Science Foundation grant no. 2015409 (I.H., A.D.).

[1]. Maccaferri M. et al. Durum wheat genome highlights past domestication signatures and future improvement targets // 2019, Nature Genetics, in press.

## ЭФФЕКТИВНЫЕ КОМБИНАЦИИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ С ДЛИТЕЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К *Pyrenophora teres f. teres*

Афанасенко О.С.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Россия, Санкт-Петербург-Пушкин, шоссе Подбельского, 3

[olga.s.afan@gmail.com](mailto:olga.s.afan@gmail.com)

Использование современных технологий по идентификации генов качественной и количественной (QTL) устойчивости ячменя к болезням путем полногеномного ассоциативного картирования (GWAS) значительно расширило генетическое разнообразие устойчивости ячменя к болезням и, в частности, к возбудителю сетчатой пятнистости *Pyrenophora teres f. teres* (Amezrou et al. 2018; Richards et al. 2017; Wonneberger et al. 2017a). К настоящему времени идентифицировано 5 главных генов устойчивости и более 40 QTL, контролирующих различный уровень устойчивости к *P. teres f. teres*. Возникает проблема практического использования в селекции имеющихся генетических ресурсов устойчивости ячменя к патогену. Существующие технологии контроля передачи генов устойчивости в элитный гибридный материал с использованием молекулярных маркеров обеспечивают возможность использования нескольких генов устойчивости для создания сортов с длительной устойчивостью. Важнейшей задачей, в настоящее время, является выявление эффективных комбинаций генов устойчивости, способных обеспечить длительную защиту от болезни. Одним из путей выявления таких комбинаций является анализ природных популяций возбудителя по вирулентности на наборе из сортов (образцов) с разными генами устойчивости. Анализ многолетних данных изменчивости популяций возбудителя сетчатой пятнистости ячменя показал, что в природных популяциях возбудителя существуют «запретные» комбинации генов вирулентности. Следовательно, комплементарные комбинации генов устойчивости смогут обеспечить эффективную защиту от болезни. Отсутствие или редкая ассоциация генов вирулентности комплементарных определенным генам устойчивости может быть обусловлена рядом причин: нарушением мейоза, летальностью либо пониженной фертильностью аскоспор, рекомбинантных по определенным генам вирулентности, пониженной фитностью аскоспор и конидий с «лишними» генами вирулентности.

Amezrou R et al. (2018) Genome-wide association studies of net form of net blotch resistance at seedling and adult plant stages in spring barley collection *Molecular Breeding* 38 doi:10.1007/s11032-018-0813-2

Richards JK, Friesen TL, Brueggeman RS (2017) Association mapping utilizing diverse barley lines reveals net form net blotch seedling resistance/susceptibility loci *Theor Appl Genet* 130:915-927

Wonneberger R, Ficke A, Lillemo M (2017a) Identification of quantitative trait loci associated with resistance to net form net blotch in a collection of Nordic barley germplasm *Theor Appl Genet* 130:2025-2043

## POSITIONAL CLONING OF THE STRIPE RUST RESISTANCE GENE, Yr15, DERIVED FROM WILD EMMER WHEAT

Fahima T.<sup>1</sup>, Klymiuk V.<sup>1</sup>, Yaniv E.<sup>1,2</sup>, Huang L.<sup>1</sup>, Dina Raats D.<sup>1</sup>, Andrii Fatiukha A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Haifa, Israel, Haifa, 199 Aba-Hushi Avenue; <sup>2</sup>University of Helsinki, Finland, Helsinki, 1 Viikinkaari.

[tfahima@evo.haifa.ac.il](mailto:tfahima@evo.haifa.ac.il)

Genetic bottlenecks associated with wheat polyploidization, domestication and initial selection in agroecosystems decreased wheat genetic diversity and increased its vulnerability to biotic and abiotic stresses. New *Pst* races documented within the last two decades have caused severe yield losses worldwide. Wild emmer wheat (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides*, WEW), the tetraploid progenitor of common wheat, has valuable residual adaptive diversity in response to diseases, including stripe rust. *Yr15*, a dominant WEW gene located on chromosome 1BS, confers broad-spectrum resistance to stripe rust. *Yr15* was incorporated into wheat cultivars and lines in research and breeding programs around the globe. Comparative genomics, chromosome walking, BAC libraries, whole genome assemblies, enabled us to identify a candidate gene for *Yr15*. We have validated its function in conferring resistance to yellow rust in durum and common wheats, by both ethyl methanesulfonate (EMS) mutagenesis of resistant *Yr15* introgression lines (ILs) and transgenic complementation of susceptible varieties. The *Yr15* protein, designated here as Wheat Tandem Kinase 1 (WTK1), has a novel structure for R-genes in wheat with putative kinase-pseudokinase domains that are both essential for resistance. Microscopic observations of fungal development and accumulation of biomass suggest that the hypersensitive response plays a central role in the resistance mechanism. We have shown that nonfunctional orthologs and paralogs of WTK1 are present on all chromosomes of groups 1 and 6 of the tetraploid (AABB) and hexaploid (AABBDD) wheat genomes. Non-functional alleles of *Yr15* (*wtk1*) in *T. dicoccoides*, *T. durum* and *T. aestivum* differ from the functional allele of WEW G25 (*Wtk1*) by indels, creating truncated proteins. We designed diagnostic markers that differentiate between *Wtk1* and *wtk1* alleles of *Yr15*. Among 545 cultivated wheat and breeding material, including durum and common wheat accessions, only *Yr15* introgression lines contained the functional allele, whereas all others contained non-functional alleles. These results suggest that *Yr15* has the potential to improve stripe rust resistance in a wide range of tetraploid and hexaploid wheat germplasm. The absence of the functional *Yr15* in tested wheat varieties highlights the value of WEW germplasm as a reservoir of resistance genes for wheat.

## СЕЛЕКЦИЯ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ В РОССИИ

Гультяева Е.И.

Всероссийский НИИ защиты растений, РФ, Санкт-Петербург-Пушкин, ш. Подбельского 3  
[eigultyeva@gmail.com](mailto:eigultyeva@gmail.com)

Бурая ржавчина – распространенное и значимое заболевание мягкой пшеницы во всех зонах ее возделывания. Селекция на устойчивость пшеницы к бурой ржавчине в России имеет длительную историю и проводится с начала 20 века. Для эффективной генетической защиты пшеницы важную роль играет разнообразие выращиваемых сортов по типам устойчивости и генам устойчивости (*Lr*-генам). Для выяснения возможного влияния растения-хозяина на изменчивость популяций патогена по вирулентности нами проводятся иммуногенетические исследования сортов пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений (<http://reestr.gossort.com>). Они включают лабораторную и полевую оценку устойчивости сортов пшеницы к возбудителю бурой ржавчины и идентификацию у них *Lr*-генов с использованием фитопатологического теста и молекулярных маркеров.

Показано существенное возрастание в районировании сортов яровой и озимой пшеницы устойчивых к бурой ржавчине в 2010 годах, по сравнению с предыдущим периодом. Определено, что доля яровых сортов с ювенильной устойчивостью, обусловленной высоко или частично эффективными олигогенами, в Госреестре составляет свыше 20%. У них выявлено широкое распространение генов распецифической устойчивости *Lr9*, *Lr19* и других чужеродных от *Aegilops speltoides* (*LrSp*) и *Agropyron intermedium* (*Lr6Agi1* и *Lr6Agi2*), неидентичных известным эффективным. Большинство сортов с геном *Lr19*, *Lr6Agi1* и *Lr6Agi2* возделывается в Поволжье, а с геном *Lr9* – на Урале и в Западной Сибири. Ситуация с озимыми сортами несколько иная. Свыше половины изученных сортов, преимущественно рекомендованные для возделывания в Северо-Кавказском регионе, характеризовались определенным уровнем устойчивости в полевых условиях в фазах взрослых растений. В стадии проростков их тип реакции к бурой ржавчине менялся в зависимости от используемых клонов или популяций гриба от устойчивости до восприимчивости, что указывало на отсутствие у этих сортов высокоэффективных ювенильных *Lr*-генов. Молекулярный скрининг не выявил у них известных эффективных генов возрастной устойчивости (*Lr21*, *Lr35*). Только у одного озимого сорта Морозко (+*Lr1*) определен эффективный возрастной ген *Lr37*. С использованием молекулярных маркеров у устойчивых в полевых условиях озимых сортов выявлено широкое распространение малоэффективных ювенильных генов *Lr1*, *Lr10*, *Lr26* и гена частичной устойчивости (partial resistance gene) *Lr34*, которые встречались по отдельности или в разных сочетаниях. Можно предположить, что устойчивость этих сортов во взрослых фазах развития обеспечивается комбинацией генов с преодоленной эффективностью.

Полученные сведения о представленности *Lr*-генов в сортах пшеницы следует учитывать в региональных селекционных программах и при размещении новых генетически защищенных сортов.

**Краткие выступления молодых ученых / Elevator Pitch for young scientists****CHAIRS: PROF. BEAT KELLER, PROF. NIKOLAY P. GONCHAROV  
ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ОБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ ИЗ  
ЭФИОПИИ ПО АДАПТИВНО ВАЖНЫМ ПРИЗНАКАМ**

Абдуллаев Р.А., Лебедева Т.В., Алпатьева Н.В., Чумаков М.А., Косарева И.А.,  
Радченко Е.Е.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов  
растений имени Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44  
[abdullaev.1988@list.ru](mailto:abdullaev.1988@list.ru)

Изучали потенциал изменчивости ячменей Эфиопии по устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам. В лабораторных экспериментах оценили ювенильную устойчивость 925 образцов ячменя из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) к северо-западной популяции возбудителя мучнистой росы *Blumeria graminis* (DC.) Golovin ex Speer f. sp. *hordei* Marchal. Устойчивые и восприимчивые растения коллекционных форм проанализировали также с помощью молекулярных маркеров, разработанных для идентификации гена *mlo11*. Фенотипический скрининг позволил выделить 27 устойчивых к *B. graminis* образцов, 47 форм гетерогенны по изученному признаку. Выявили 15 образцов, несущих аллель *mlo11*, который обеспечивает длительную устойчивость к мучнистой росе большинства современных сортов ячменя. Экспрессия устойчивости у этих образцов различна, что может объясняться как проявлением других, нетождественных *mlo11*, генов устойчивости, так и присутствием в генотипах выделенных образцов разных аллельных вариантов гена *mlo11*. Устойчивость к *B. graminis* остальных 59 форм контролируется эффективными генами, отличающимися от *mlo11*. Изученная коллекция неоднородна также по резистентности к краснодарской популяции обыкновенной злаковой тли (*Schizaphis graminum* Rondani). Умеренной устойчивостью к опасному вредителю характеризовались 13 образцов, 29 форм оказались гетерогенными. На фоне естественной эпидемии карликовой ржавчины (возбудитель – *Puccinia hordei* G.H. Otth.) на полях Пушкинских лабораторий ВИР (Санкт-Петербург) в 2018 г. оценили устойчивость 644 образцов. Большая часть изученных форм восприимчива к болезни. Устойчивостью характеризовались 17 образцов, из них 2 обладали резистентностью к мучнистой росе. Все устойчивые к *B. graminis* образцы изучили по чувствительности к хлоридному засолению почвы. В лабораторных опытах устойчивость к стрессору выявлена у 15 образцов ячменя. Таким образом, наши эксперименты показали, что ячмени Эфиопии характеризуются довольно высокой частотой форм, защищенных не только *mlo11*, но и другими эффективными генами устойчивости к мучнистой росе. Выявлены образцы с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам, а также к абиотическому стрессору.

Работа была выполнена при поддержке РФФИ (грант № 18-016-00075).

## THE STUDY OF FUNGAL INFECTION AND MYCOTOXINS IN GRAIN OF WILD *AVENA* SPECIES FROM VIR COLLECTION

Gavrilova O.P.<sup>1</sup>, Gagkaeva T.Yu.<sup>1</sup>, Orina A.S.<sup>1</sup>, Blinova E.V.<sup>2</sup>, Loskutov I.G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR), Russia, St-Petersburg-Pushkin

<sup>2</sup> Federal Research Center N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Russia, St-Petersburg

[olgavrilova1@yandex.ru](mailto:olgavrilova1@yandex.ru)

The genetic potential of *Avena* genus can be serve as useful source of material for breeding resistant cultivars. The 57 genotypes belonging to *A. atlantica*, *A. canariensis*, *A. clauda*, *A. damascena*, *A. hirtula*, *A. longiglumis*, *A. wiestii*, *A. agadiriana*, *A. barbata*, *A. vaviloviana*, *A. insularis*, *A. magna*, *A. murphyi*, *A. fatua*, *A. ludoviciana*, *A. occidentalis*, *A. sterilis* from the collection of the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR) were tested for infection of grain by seed-borne fungi [1]. The plants were grown in the field and inoculated by *Fusarium culmorum*, in addition to natural infection. Quantification of DNA of the trichothecene producing *Fusarium* (Tri-*Fusarium*), *Alternaria* and *Cladosporium* fungi was performed by TaqMan PCR. All grain samples were examined for DON content by ELISA. Also we analyzed the connection for some morphological traits of the *Avena* species and grain infection by fungi.

The amounts of *Alternaria* DNA ranged from 0.057 to 0.79 pg/ng of total DNA. The greatest variation in the DNA amount was detected for *Cladosporium* fungi (0.0029–3.3 pg/ng). The DNA of Tri-*Fusarium* showed substantial variation in the range 0.0065–1.2 pg/ng. The level of DON varied between 52 and 3862 µg/kg. It was revealed the high negative correlation ( $p < 0.01$ ) between their DNA of *Alternaria* and *Cladosporium* fungi and proportion of husk mass as well as with trichomes profusion was found. In contrary, a significant positive correlation ( $p < 0.01$ ) was detected between the amount of Tri-*Fusarium* DNA and these traits ( $r = 0.39$ ).

The average amounts of *Alternaria*, *Cladosporium* and Tri-*Fusarium* DNA in the di- and tetraploid *Avena* species were 1.3–2.8 times higher than in hexaploid species. Also the average amount of DON in the tetraploid group of *Avena* species was 2.0–2.2 times higher than in the di- and hexaploid species. The significant positive correlations ( $p < 0.05$ ) were detected between contents of *Alternaria* and *Cladosporium* DNA ( $r = 0.81$ ), and between Tri-*Fusarium* DNA and DON ( $r = 0.60$ ).

Combining the results of DNA quantification of *Alternaria*, *Cladosporium*, Tri-*Fusarium* fungi and DON contamination showed that the least-infected oats were hexaploids *A. byzantina*, *A. fatua*, *A. sativa*, and *A. sterilis* and diploid *A. wiestii*. The hexaploids *A. magna* and *A. vaviloviana* and the diploid *A. longiglumis* showed the highest levels of fungal DNA and DON contents.

The investigation was supported by the Russian Science Foundation (No. 14-16-00072).

[1]. Gagkaeva T.Yu., Gavrilova O.P., Orina A.S., Blinova E.V., Loskutov I.G. Response of wild *Avena* species to fungal infection of grain // 2017, The Crop J., V.5, No.6, P.499-508, <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.005>

## ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ЛОКУСА *Blp*, КОНТРОЛИРУЮЩЕГО ФОРМИРОВАНИЕ ПРИЗНАКА ЧЁРНОЙ ОКРАСКИ КОЛОСА ЯЧМЕНЯ (*Hordeum vulgare* L.)

Глаголева А.Ю.<sup>1</sup>, Шмаков Н.А.<sup>1</sup>, Мурсалимов С.Р.<sup>1</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,2</sup>, Шоева О.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44

[glagoleva@bionet.nsc.ru](mailto:glagoleva@bionet.nsc.ru)

У ячменя (*Hordeum vulgare* L.) описан признак черной окраски колоса, обусловленный синтезом полифенольных соединений меланинов в цветковой чешуе и в перикарпе зерна. Сообщалось о взаимосвязи данного признака с повышенной устойчивостью растений ячменя к фузариозу, а также к неблагоприятным условиям внешней среды (засуха, пониженная температура). Тканеспецифическое образование меланиновых пигментов в колосе контролируется моногенно. Соответствующий локус *Blp* (*black lemma and pericarp*) был картирован на длинном плече хромосомы 1Н. В данном локусе были идентифицированы 40 генов-кандидатов [1], однако ни один из генов, вовлеченных в формирование признака черной окраски, до сих пор не выделен.

Целью данного исследования является сравнительная характеристика почти изогенных линий ячменя, различных по локусу *Blp*, для выявления потенциальных генов-кандидатов данного локуса. Для работы нами были выбраны почти изогенные линии ячменя: неокрашенный сорт Bowman (Bw) и черноколосая линия i:Bw*Blp*.

В работе была проведена сравнительная морфометрическая характеристика, а также цитологический анализ развивающегося зерна и транскриптомный анализ чешуй колоса и перикарпа зерна данных линий.

Было показано, что локус *Blp* оказывает существенно влияние на метаболизм растений ячменя. В частности, показано, что данный локус снижает показатели продуктивности колоса у линии с черной окраской, но оказывает положительный эффект на устойчивость проростков ячменя в условиях абиотического стресса. Сравнительный RNA-seq анализ чешуй колоса и перикарпа зерна изучаемых линий позволил установить, что различия аллельного состава в локусе *Blp* ассоциированы с изменением экспрессии более тысячи генов. Среди генов с повышенной экспрессией в линии i:Bw*Blp* наиболее представленными являются гены путей биосинтеза фенилпропаноидов и жирных кислот, в то время как экспрессия генов биосинтеза целлюлозы значительно снижена в этой линии по сравнению с Bw. С помощью световой микроскопии впервые была определена внутриклеточная локализация меланиновых пигментов.

Проведенный сравнительный комплексный анализ показал, что локус *Blp* определяет не только черную окраску колоса, но оказывает влияние на метаболизм растений. Полученные данные позволяют сузить список потенциальных генов-кандидатов локуса *Blp* для последующего их детального изучения.

[1]. Jia et al., Toward identification of black lemma and pericarp gene *Blp1* in barley combining bulked segregant analysis and specific-locus amplified fragment sequencing. // 2017, Front. Plant Sci. 8:1414.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА *Lr19* В ОБРАЗЦАХ КОЛЛЕКЦИИ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ

Груздев И.В.<sup>1,2</sup>, Пырсигов А.С.<sup>1</sup>, Гарибян Ц.С.<sup>1,2</sup>, Коленков М.А.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Российская Федерация, Москва, Тимирязевская, 42;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Российская Федерация, Москва, Тимирязевская, 49;

[gruzdev82mtz@mail.ru](mailto:gruzdev82mtz@mail.ru)

Тритикале – новая зерновая культура, активное распространение которой ставит ее в ряд наиболее хозяйственно востребованных культур. Наибольшую актуальность среди заболеваний тритикале в последнее время приобретает листовая ржавчина пшеницы, вызываемая патогеном *Puccinia triticina* Erikss. Листовая ржавчина – одно из серьезных заболеваний, потери урожая от которой может достигать 50%.

Будучи аллополиплоидом, тритикале сочетает в себе гены устойчивости к листовой ржавчине пшеницы и ржи, и, следовательно, обладает большим разнообразием ответных и защитных реакций. На сегодняшний день имеются сведения о 75-и генах устойчивости к листовой ржавчине (*Lr*-гены). Многие *Lr*-гены к настоящему моменту утратили свою эффективность. Использование молекулярных ДНК-маркеров позволяет эффективно вести отбор устойчивых форм. С их помощью осуществляется скрининг коллекций сортов и линий на наличие доноров *Lr*-генов. Ген *Lr19* был перенесен пшенице от *Thinopyrum ponticum* в хромосомы пшеницы гомеологичной группы 7. Ген *Lr19* в течение длительного времени считается одним из самых надёжных и получил большое распространение. Однако, имеются сообщения, что в ряде регионов Российской Федерации этот ген уже не обеспечивает устойчивости.

В результате проведённого ПЦР-анализа с использованием маркера LrAg было установлено, что у 43 из 179 образцов коллекции яровой тритикале амплифицируется фрагмент около 800 п.н., близкий к фрагменту 811 п.н., характерному для положительного контроля – носителя гена *Lr19*, моногенной линии сорта Thatcher, причем 14 образцов оказались популяциями, в которых встречаются растения, не несущие данного гена.

Выделенные образцы могут быть использованы в селекционном процессе на устойчивость к листовой ржавчине.

## ИЗУЧЕНИЕ ОРГАНИЗАЦИИ ПРОФАЗНОГО ЯДРА У ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ (ABDR, 4X=28) С РАЗЛИЧНЫМ ПАТТЕРНОМ МЕЙОТИЧЕСКОГО ДЕЛЕНИЯ

Логинова Д.Б.<sup>1</sup>, Силкова О.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Российская Федерация, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева 10.

[loginova@bionet.nsc.ru](mailto:loginova@bionet.nsc.ru)

У межродовых гибридов пшеницы отсутствует спаривание гомологичных хромосом, вследствие отсутствия гомологов, а благодаря активности *Ph*-генов подавляется спаривание негомологичных хромосом. Однако оба этих факта не приводят к остановке деления в силу отсутствия строгого пахитенного чекпоинта, что дает возможность изучать мейоз у полигаплоидных гибридов. Целью настоящего исследования было понять структурную и функциональную организацию ядер на стадии профазы I у пшенично-ржаных гибридов с различным генетическим фоном [1]. Сочетание иммуноокрашивания с антителами против ASY1, CENH3 с конфокальной микроскопией позволяет изучать динамику и организацию центромер. В контрольных растениях линий 1Rv(1A), 2R(2D), в лептотене в ядрах было обнаружено от 6 до 16 сигналов CENH3, в зиготене – 21 сигнал, начиная со стадии диплотена, в ядрах присутствовало 42 сигнала. Динамика и структура центромерных районов у гибридов 1Rv(1A)xR и 2R(2D)xR отличалась от нормы. На стадии лептотена количество сигналов CENH3 варьировало от 5 до 11, во время зиготены и в пахитене количество сигналов увеличивалось – от 23 до 27. Некоторые из сигналов CENH3 отличались по размеру (больше) и имели неправильную форму (в форме звезды), возможно, из-за комбинации нескольких центромер. Во время зиготены - пахитены наблюдалась различная степень конденсации центромер между отдельными хромосомами. В части мейоцитов компактизация CENH3 различалась значительно. Сочетание иммуноокрашивания с флуоресцентной *in situ* гибридизацией с зондами, комплементарными центромерным (*bilby*) и субтеломерным повторам (*pSc200*) ржи позволили более точно проследить динамику и организацию хромосом ржи в ядрах гибридов. В некоторых мейоцитах на стадии зиготены субтеломерные повторы формировали 2 плотных кластера вместо одного, что согласуется с данными, полученными ранее с использованием FISH с теломерными повторами TTTAGGG (неопубликованные данные).

[1] Silkova O.G., and Loginova D.B. Sister chromatid separation and monopolar spindle organization in the first meiosis as two mechanisms of unreduced gametes formation in wheat-rye hybrids // 2016, Plant Reprod., V.29(1-2), P.199-213.

### Благодарности:

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-04-01014

## ИЗУЧЕНИЕ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ОЗИМОМУ СОРТУ БЕЗОСТАЯ 1 С КОМБИНАЦИЕЙ ДОМИНАНТНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ЛОКУСОВ *VRN-1*

Чуманова Е.В.<sup>1</sup>, Ефремова Т.Т.<sup>1</sup>, Кручинина Ю.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», пр. акад. Лаврентьева, 10

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет», Россия, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160.

[chumanova@bionet.nsc.ru](mailto:chumanova@bionet.nsc.ru)

Гены чувствительности к яровизации (*VRN*) являются основными генетическими системами, определяющими продолжительность вегетационного периода мягкой пшеницы. К настоящему времени для локусов *VRN-1* описан ряд аллелей и разработаны аллель-специфичные праймеры, позволяющие проводить быструю идентификацию аллельного состава у сортов и линий. Установлено неодинаковое влияние различных аллелей локусов *VRN-1* на продолжительность вегетационного периода, однако недостаточно исследований, касающихся влияния комбинации различных аллелей на время колошения. Изучение влияния комбинаций аллелей *VRN-A1* и *VRN-B1* на длительность вегетационного периода представляет наибольший интерес для России и Западной Сибири в частности, поскольку тип развития большинства сортов, характерных для данной территории, определяется аллелями этих двух доминантных генов.

В рамках данной работы две почти изогенные линии по сорту Безостая 1 (i: Без1*Vrn-B1a* и i: Без1*Vrn-B1c*) были скрещены с изогенной линией i: Без1*Vrn-A1a*. С использованием известных аллель-специфичных праймеров для локусов *VRN-A1* и *VRN-B1* в поколении F<sub>2</sub> были получены гомозиготные растения с двумя доминантными аллелями *VRN-1*: *Vrn-A1a/Vrn-B1a* и *Vrn-A1a/Vrn-B1c*. На основе генетического расщепления гибридов F<sub>2</sub> с тестерными изогенными линиями подтверждено, что полученные линии несут два доминантных гена: *Vrn-A1* и *Vrn-B1*.

Была изучена продолжительность отдельных фаз развития у полученных линий в полевых условиях 2017 и 2018 гг. Линии с комбинацией двух аллелей выколашивались за 40-41 день, что в среднем на 2 дня меньше по сравнению с изогенной линией с аллелем *Vrn-A1a*, и достоверно меньше по сравнению с изогенными линиями i: Без1 *Vrn-B1a* (на 9-10 дней,  $p \leq 0,01$ ) и i: Без1 *Vrn-B1c* (на 5-10 дней,  $p \leq 0,05-0,01$ ) соответственно. Различия по продолжительности периода «всходы-колошение» были связаны с уменьшением продолжительности периода от всходов до формирования первого узла, который является ключевым этапом, определяющим в итоге продолжительность вегетационного периода. Так, у полученных линий данный период был короче в среднем на 2 дня по сравнению с изогенной линией с аллелем *Vrn-A1a*, а по сравнению с изогенными линиями i:Без1 *Vrn-B1a* и i:Без1 *Vrn-B1c* – на 9 и 7-8 дней соответственно ( $p \leq 0,001$ ).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-34-00146 мол\_а и бюджетного проекта 0324-2018-0018.

**Сессия V. Качество и безопасность зерна всех направлений использования /  
Session V. High quality and safe cereals for food, feed and processing use**

**SCREENING OF GRAIN CROPS IN THE SEARCH AND BREEDING OF  
RAW MATERIALS FOR FUNCTIONAL NUTRITION**

Abugaliyeva A.I.<sup>1</sup>, Savin T.V.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>*Kazakh Scientific Research Institute of Agriculture and Plant Growing, Kazakhstan, Almaty*

<sup>2</sup>*Karabalyk Experimental Agricultural Station, Kazakhstan, Karabalyk*

*kiz\_abugaliyeva@mail.ru*

Wheat gene pool (wild relatives, modern varieties, spring, winter and optional introgressive forms), barley (*H.spontaneum*, varieties, treasury collections, USA, 50 in diapauses and bare seeds), oats, analyzed and classified by mineral composition grains (N, P, K, Ca, Mg, Mn, S, Fe, Zn, Al, Cu, Cd). Biofortification genotypes (Fe, Zn) for wheat with the participation of wild relatives were identified.

The genotypes of wheat, barley, oat triticale are differentiated by the composition and ratio of protein fractions and components according to the degree of digestibility and allergic sensitivity. (Variety *Kazakhstanskaya-10* and its hybrids with a null allele for A-gliadin); the amount and quality of starch is high amylose triticale form (> 43-45% amylose in grain); content  $\beta$ -glucan and arabinoxylan; fatty acid composition (oats, soybeans, corn)

The genetic resources are used for molecular genetic mapping and fixing uniformity using DH methods. In breeding material for healthy food.

## СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА ПРИМЕРЕ ГЕНОВ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ

Новосельская-Драгович А.Ю.

ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук,  
Россия, г. Москва, 119991, ул. Губкина, 3

[dragovich@vigg.ru](mailto:dragovich@vigg.ru)

Мягкая пшеница *Triticum aestivum* L. (геном AABBDD) обладает одним из самых крупных геномов в семействе Poaceae в 4,2 млрд. п.о. 70-90% генома – это повторяющиеся последовательности ДНК (ПП), большая часть которых представлена мобильными элементами. 2% генома приходится на функциональные гены, к ним относятся гены проламинов (Pг-гены) - запасных белков зерновки, влияющих на качество муки. Проламины контролируются 4-мя локусами, картированными в 3-х геномных областях. Локусы состоят из кластеров генов, возникших в результате тандемных дупликаций, которые транскрибируются и наследуются совместно, но располагаются на хромосоме неравномерно, часто на больших расстояниях друг от друга и расстояние это зависит от длины блоков ПП между ними. Pг-гены могут перемежаться также и неродственными им генами. Размер большинства Pг-генов с регуляторными последовательностями – 1-1,5 Kb, а всего локуса - не менее 2500 Kb. Для геномов А, В и D были аннотированы 96, 164 и 129 Pг-генов соответственно, с более 40% псевдогенов. Сравнение ортологичных областей генома родственных видов выявило участки с большим числом не синтенных Pг-генов (иногда в 6-8 раз превышающее число предковых генов) возникших, вероятно, в результате инсерций с последующим тандемным их дублированием. Обнаружено также отсутствие коллинеарности некоторых Pг-генов, что связывают как с инверсией участка ДНК, так и с транслокацией. Гены в гомеологичных хромосомах расположены почти всегда коллинеарно. Pг-гены тесно сцеплены с R-генами, относящимися к NLR и RLK семействам устойчивости. Секвенированием установлено, что обилие R-генов обеспечивается тандемной и сегментарной дупликацией. R-гены образуют кластеры. Предполагается, что Pг- и R-гены коэволюционируют внутри дистального района хромосомы, в котором они локализованы и который характеризуется высокой частотой рекомбинации. Рекомбинация и обмен блоками последовательности, содержащими разное количество генов, приводит к увеличению гаплотипического разнообразия – появлению новых аллелей, влияющих на качество, и новой специфичности устойчивости к патогенам. Высокая избыточность генома пшеницы позволяет сохранять значительную долю дублированных генов. Дупликация генов у пшеницы является одним из наиболее важных эволюционных процессов, который расширяет генные области, генерирует генетическое разнообразие и функциональную новизну, и поэтому играет важную роль в адаптации и видообразовании. Обсуждаются общие аспекты структурной организации генома пшеницы.

## STUDYING OF THE MOLECULAR-GENETIC CONTROL OF POLYPHENOLIC PIGMENTATION IN WHEAT AND BARLEY AS A BASIS FOR BREEDING ANTIOXIDANT-RICH CEREALS

Shoeva O.Yu.<sup>1</sup>, Gordeeva E.I.<sup>1</sup>, Kukoeva T.V.<sup>1</sup>, Strygina K.V.<sup>1</sup>, Vikhorev A.V.<sup>1</sup>,  
Glagoleva A.Yu.<sup>1</sup>, Shmakov N.A.<sup>1</sup>, Levanova N.M.<sup>1,2</sup>, Mursalimov S.R.<sup>1</sup>, Yudina R.S.<sup>1</sup>,  
Börner A.<sup>3</sup>, Khlestkina E.K.<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia;* <sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia;* <sup>3</sup>*Leibniz-Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany;* <sup>4</sup>*N.I.Vavilov Institute of Plant Genetic Resources, Saint Petersburg, Russia*

Plant polyphenols have pronounced antioxidant properties. These compounds play important functions, associated with regulation of growth and development, as well as adaptation under stress. Due to convincing data on their benefits for the prevention of certain human diseases, there is a steady tendency to saturate food by these compounds and its inclusion in the daily diet. Particular attention in this aspect is paid to the breeding new varieties of cereals with a high content of polyphenolic compounds in grain [1], which is not possible without knowledge of the molecular genetic control of their biosynthesis. Polyphenolic compounds that increase antioxidant status of cereal grains include anthocyanin and melanin pigments. Anthocyanins, synthesized in pericarp and aleurone layer, impart a purple and blue color to grain, respectively. Melanin pigments accumulate in lemma and pericarp of grain, giving a brown-black color to barley spike.

The purpose of this study was to characterize the genes responsible for synthesis of anthocyanin pigments in wheat and barley grain, as well as melanin pigments in barley spike and to determine the features of their genetic regulation.

As a results, the regulatory genes that control synthesis of anthocyanin pigments in wheat and barley grain, as well as vegetative organs were identified and characterized in details, and alleles of the genes that determine phenotypic differences in pigmentation were identified. Key genes controlling the synthesis of melanins in spike of barley were established. Using near isogenic lines with different combinations of dominant and recessive alleles of the regulatory genes, the features of the anthocyanins synthesis regulation in wheat and barley were determined.

The data obtained represent a basis for development of a breeding scheme for accelerated creation of new forms of cereals with increased anthocyanin content in grain.

[1]. Dwivedi S.L. et al., Exploiting phenylpropanoid derivatives to enhance the nutraceutical values of cereals and legumes. // 2016, *Front. Plant Sci.* 7:763. doi:10.3389/fpls.2016.00763.

**Acknowledgments:** the study of anthocyanin synthesis in wheat was partially supported by RFBR (19-016-00140), the study of anthocyanin synthesis in barley was partially supported by RFBR (18-416-543007), and the study of melanin pigmentation of barley was partially supported by RSF (16-14-00086).

**Сессия VI. Молекулярная и геномная селекция зерновых культур / Session VI. Molecular Breeding and Genomic selection of small grains****PLANT BREEDING IN THE 21<sup>ST</sup> CENTURY: MOLECULAR BREEDING AND HIGH THROUGHPUT PHENOTYPING**

Sorrells M.E.

*Cornell University, USA, Ithaca, NY, 240 Emerson Hall*

*mes12@cornell.edu*

The discipline of plant breeding is experiencing a renaissance impacting crop improvement as a result of new technologies, however fundamental questions remain for predicting the phenotype and how the environment and genetics shape it. Inexpensive DNA sequencing, genotyping, new statistical methods, high throughput phenotyping and gene-editing are revolutionizing breeding methods and strategies for improving both quantitative and qualitative traits. Genomic selection (GS) models use genome-wide markers to predict performance for both phenotyped and non-phenotyped individuals. Aerial and ground imaging systems generate data on correlated traits such as canopy temperature and normalized difference vegetative index that can be combined with genotypes in multivariate models to further increase prediction accuracy and reduce the cost of advanced trials with limited replication in time and space. Design of a GS training population is crucial to the accuracy of prediction models and can be affected by many factors including population structure and composition. Prediction models can incorporate performance over multiple environments and assess GxE effects to identify a highly predictive subset of environments. We have developed a methodology for analyzing unbalanced datasets using genome-wide marker effects to group environments and identify outlier environments. Environmental covariates can be identified using a crop model and used in a GS model to predict GxE in unobserved environments and to predict performance in climate change scenarios. These new tools and knowledge challenge the plant breeder to ask the right questions and choose the tools that are appropriate for their crop and target traits. Contemporary plant breeding requires teams of people with expertise in genetics, phenotyping and statistics to improve efficiency and increase prediction accuracy in terms of genotypes, experimental design and environment sampling.

## GENOMICS-BASED BREEDING OF HYBRID RYE (*SECALE CEREALE*)

Miedaner T.<sup>1</sup>, Wilde, P.<sup>2</sup>, Korzun, V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Hohenheim, State Plant Breeding Institute, Fruwirthstr. 21, 70599 Stuttgart, Germany; <sup>2</sup>KWS LOCHOW, F.v.Lochow-Str. 5, 29303 Bergen, Germany

[miedaner@uni-hohenheim.de](mailto:miedaner@uni-hohenheim.de)

Winter rye (*Secale cereale* L.) is an important cereal crop in Russia, Germany, Poland, Finno-Scandinavia, Belarus, Ukraine, and Spain with 3.6 million hectares grown in total in Europe. Rye is a cross-pollinating crop with a strong self-incompatibility system and traditionally bred as population variety. Hybrid rye breeding is based on self-fertility, cytoplasmic-male sterility (CMS) together with nuclear pollen-fertility restorer genes and two genetically non-related heterotic pools [1]. The initial development of hybrid rye depended on genetic resources, that is, the CMS system from Argentinean landraces, restorer genes from Iran and Argentina, and rust resistance genes from Russia [2]. Today, about 70-80% of the rye acreage in Germany is planted by hybrid cultivars. They show generally a yield advantage of 15-20% over population cultivars and a considerably higher selection gain for grain yield (0.77 vs. 0.24 dt ha<sup>-1</sup> yr<sup>-1</sup>) as revealed from results of the German statutory trials across 26 years [1]. Genomic tools in rye developed only recently caused by the low international recognition of this crop. Today, genotyping-by-sequencing (GBS) data and medium to high-density single nucleotide polymorphism (SNP) assays are available for rye. Based on these genomic resources dense genetic maps are available. A first draft genome sequence of rye was generated through extensive whole-genome shotgun sequencing [3]. The first high quality full sequence of the rye genome is expected in 2019. The advance of genomic resources in rye allowed to uncover the genetic architecture of qualitative and quantitative traits by gene/QTL mapping, to achieve a balanced introgression of small genome segments from plant genetic resources, and to introduce genomic selection (GS) into the breeding process. GS accuracy, however, greatly relies on relatedness among training and test populations and a regular re-calibration is necessary, especially when introducing new parental lineages or even new source populations. The latter is pivotal to safeguard a large genetic variation for all quantitative traits under selection. Genomics-based breeding will accelerate the integration of new complex inherited traits in future, like drought tolerance or feeding quality, in the breeding progress.

[1]. Miedaner T., Laidig F. Hybrid breeding in rye (*Secale cereale* L.). // 2019. In: J.M. Al-Khayri et al. (eds), *Advances in Plant Breeding Strategies, Vol 5: Cereals and Legumes*. Springer International Publishing Switzerland (In Press).

[2]. Miedaner T., Wilde P. Selection strategies for disease-resistant hybrid rye. // 2019. In: Ordon F., Friedt W. (eds), *Advances in Crop Breeding*, Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, UK. ISBN: 978-1-78676-2443 (In Press).

[3]. Miedaner T., Korzun V, Bauer E. Genomics-based hybrid rye breeding. // 2018. In: Miedaner T, Korzun V (eds), *Applications of Genetic and Genomic Research in Small-Grain Cereals*, pp. 329-348. Elsevier, Amsterdam, NL. ISBN: 9780081021637.

## ГЕНОМИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ СЕЛЕКЦИЯ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР

Корзун В.Н.

КВС, Айнбек, Германия, [www.kws.com](http://www.kws.com), e-mail: [viktor.korzun@kws.com](mailto:viktor.korzun@kws.com)

Пер. с англ.: «Если какой-либо ученый заслуживает посмертной нобелевской премии, то это, конечно, Николай Иванович Вавилов» (D.J. Murphy - «People, Plants and Genes» (Oxford University Press, 2007. - p. 57)

В начале XXI века человечество сталкивается со сложной проблемой надежного обеспечения достаточного количества продовольствия для растущего населения на фоне сокращения земельных ресурсов и меняющегося климата. В этом контексте геномика и особенно связанные с ней молекулярно-генетические технологии играют важную роль в создании новых сортов, лучше приспособленных для решения этих проблем. В течение последнего десятилетия технология молекулярных маркеров предоставила широкий спектр новаторских подходов для улучшения выбора оптимальной для конкретных условий стратегии, а также быстрого расширения высокопроизводительных методов современной селекции.

Наличие новых молекулярных инструментов и технологий позволяет оказывать значительное влияние на планирование и развитие важнейших элементов селекции, необходимых для ускорения этого процесса. Связанный с успешной селекцией мониторинг генетического разнообразия, целевое использование генетических ресурсов растений, примеры конкретных, успешных применений молекулярных маркеров в селекции злаковых культур, потенциал геномной селекции и применение геномики и генной инженерии в селекции зерновых культур будут представлены и обсуждены.

**Сессия VII. Будущие вызовы и инновации /Session VII. Future challenges  
and innovations****THE GENETIC ARCHITECTURE OF GRAIN-YIELD HETEROSIS IN  
WHEAT**Reif J.C.<sup>1</sup><sup>1</sup> *Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Seeland OT Gatersleben, Germany**reif@ipk-gatersleben.de*

Increasing wheat yield is a key global challenge to producing sufficient food for a growing human population [1]. Wheat grain yield can be boosted by exploiting heterosis, the superior performance of hybrids compared with midparents. A tailored quantitative genetic framework was developed which facilitates to study the genetic basis of midparent heterosis in hybrid populations derived from crosses among diverse parents. This framework was applied to four extensive wheat data sets assembled for winter wheat differing in the degree of divergence between parents. Midparent heterosis was significantly lower in the “Exotic” set including crosses between elite and exotic lines than in the “Elite” panel comprising crosses among elite lines. The genome-wide association mapping analysis revealed that this reduction in heterosis was like caused by a higher portion of negative dominance and dominance-by-dominance epistatic effects in the “Exotic” than in “Elite” hybrids. These findings give first hints on the optimum design of heterotic patterns in hybrid wheat breeding.

[1]. Jiang, Y. R. Schmidt, Y. Zhao, and J.C. Reif. 2017. A quantitative genetic framework highlights the role of epistatic effects for grain-yield heterosis in bread wheat. *Nat Genet.* 2017 Dec;49(12):1741-1746.

**Acknowledgements:** This work was funded by BMEL through BLE within the “ZUCHTWERT” project (Grant ID: 2814604113). We thank GFPi and proWeizen for project coordination.

## SPEED BREEDING: A POWERFUL TOOL TO ACCELERATE WHEAT RESEARCH AND BREEDING

Hickey L.T.<sup>1</sup>, Watson A.<sup>1</sup>, Ghosh S.<sup>2</sup>, Hayes B.<sup>1</sup>, Voss-Fels K.<sup>1</sup>, Godwin I.D.<sup>1</sup>, Wulff B.B.H.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Queensland Alliance for Agriculture and Food Innovation, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia; <sup>2</sup>John Innes Centre, Norwich Research Park, Norwich, UK

[l.hickey@uq.edu.au](mailto:l.hickey@uq.edu.au)

The growing human population and a changing environment have raised significant concern for global food security, with the current improvement rate of several important crops inadequate to meet future demand. This slow improvement rate is attributed partly to the long generation times of crop plants. ‘Speed breeding’ greatly shortens generation time and accelerates breeding and research programmes. Speed breeding can be used to achieve up to 6 generations per year for major crops such as spring wheat, durum wheat, barley, chickpea, lentil and pea, instead of 2-3 under normal glasshouse conditions. In 2018, the technology was in the spotlight, featuring on the covers of *Nature Plants* [1] and *Nature Protocols* [2], and gained widespread media attention. In this presentation, we highlight innovative wheat breeding strategies that integrate ‘speed breeding’ with other modern breeding technologies, including genome editing and genomic selection. Using simulations based on real wheat data sets we exemplify how a combination of genomic selection and speed breeding can substantially reduce the length of the wheat breeding cycle and maximise genetic gain per unit time. We outline the opportunities and challenges associated with the fusion of these breeding tools to achieve sustainable long-term genetic gain.

[1]. Watson A., Ghosh S., Williams M., Cuddy W.S., Simmonds J., Rey. M.D., Hatta M.A.M., Hinchliffe A., Steed A., Reynolds D., Adamski N., Breakspear A., Korolev A., Rayner T., Dixon L.E., Riaz A., Martin W., Ryan M., Edwards D., Batley J., Raman H., Carter J., Rogers C., Domoney C., Moore G., Harwood W., Nicholson P., Dieters M.J., DeLacy I.H., Zhou J., Uauy C., Boden S.A., Park R.F., Wulff B.B.H., Hickey L.T., Speed breeding is a powerful tool to accelerate crop research and breeding. // 2018, *Nat. Plants*, V.4, P.23–29

[2]. Ghosh S., Watson A., Gonzalez-Navarro O.E., Ramirez-Gonzalez R.H., Yanes L., Mendoza-Suárez M., Simmonds J., Wells R., Rayner T., Green P., Hafeez A., Hayta S., Melton R.E., Steed A., Sarkar A., Carter J., Perkins L., Lord J., Tester M., Osbourn A., Moscou M.J., Nicholson P., Harwood W., Martin C., Domoney C., Uauy C., Hazard B., Wulff B.B.H., Hickey L.T., Speed breeding in growth chambers and glasshouses for crop breeding and model plant research. // 2018, *Nat. Protocols*, V.13, P.2944–2963

## OPPORTUNITIES FROM CROP GENOME EDITING

Lawrenson T., Hayta S., Smedley M., Hundleby P., Harwood W.  
John Innes Centre, Norwich Research Park, Norwich, NR4 7UH, UK  
[wendy.harwood@jic.ac.uk](mailto:wendy.harwood@jic.ac.uk)

Genome editing using RNA-guided Cas9 (CRISPR/Cas9) is revolutionizing crop research and has great potential for use in crop improvement. This technology provides, for the first time, the ability to make changes at a precise location in the plant genome. The main use of the technology to date is in the creation of mutations in target genes to knock-out their function. We first demonstrated targeted gene knock-outs in barley and Brassica [1], [2] and have now created large numbers of gene knock-outs in these crops. In wheat, we have used CRISPR/Cas9 to create precise deletions and have explored the use of base editing technologies. In addition, we have recently demonstrated successful gene targeting or 'knock-in' in barley. Specific examples of the use of these genome editing technologies in different research projects will be described. Future opportunities arising from advances in genomes editing technologies will be discussed together with the challenges faced in regulating this new technology.

[1] Lawrenson T, Shorinola O, Stacey N, Liu C, Østergaard L, Patron N, Uauy C, Harwood, W. (2015) Induction of targeted, heritable mutations in barley and *Brassica oleracea* using RNA-guided Cas9 nuclease. *Genome Biology* 16: 258.

[2] Lawrenson, T., Harwood W.A., (2018) Creating Targeted Gene Knock-outs in Barley using CRISPR/Cas9, in Barley: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology Volume 1900.

**Сессия VIII. Крупные проекты сотрудничества на национальном и международном уровнях / Session VIII. National and International large collaborative projects**

**BREEDWHEAT: BREEDING FOR SUSTAINABLE WHEAT VARIETIES, AN INTEGRATED PROJECT FROM GENOMICS TO SELECTION**

Paux E.<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>UMR1095 INRA-UCA, France, Clermont-Ferrand  
[etienne.paux@inra.fr](mailto:etienne.paux@inra.fr)

The challenge for wheat breeding is to deliver safe, high-quality, and health-promoting food and feed in a sustainable manner across environments affected by global change. In that context, the BreedWheat project gathers 27 public and private partners in research and breeding to ensure that the knowledge, resources, and methods are translated rapidly into products and varieties. BreedWheat aims at producing a sequence-based tool box from the wheat genome that will enable a breakthrough in marker development and mapping, and combine this with a large and ambitious phenotyping program to (1) decipher the genetic and ecophysiological basis of abiotic and biotic stress tolerance, yield components, and quality by large scale association genetics studies; (2) expand and facilitate the use of original genetic resources to increase allelic variability in the elite wheat gene pool; (3) evaluate and integrate new and innovative breeding methods to select improved bread wheat varieties that meet the needs of breeders, growers, and consumers thereby enabling a competitive and sustainable wheat production in France; and (4) provide new bioinformatics tools and databases to efficiently perform association genetics studies and disseminate the results of the project to scientists, breeders, growers, and consumers. An overview of the project will be presented, with an emphasis on some of the results, including the high-density TaBW280K and low-density TaBW35K SNP arrays [1], as well as the characterization of the worldwide wheat genetic diversity [2].

[1]. Rimbart H. et al., High throughput SNP discovery and genotyping in hexaploid wheat. // 2018, PLoS ONE, V.13, P. e0186329.

[2]. Balfourier F., Bouchet S. et al., Worldwide phylogeography and history of wheat genetic diversity. // 2019, BioRxiv.

**Acknowledgements:** The research leading to these results have received funding from the French Government managed by the Research National Agency (ANR) under the Investment for the Future programme (BreedWheat project ANR-10-BTBR-03), from FranceAgriMer, French Funds to support Plant Breeding (FSOV), from Région Auvergne and from INRA. RDO was funded by a grant from the French Ministry for Research.

**Проф. Frank Ordon** (JKI, Германия) – Проект *proWeizen*, Germany

## MARKER-TRAIT ASSOCIATIONS IN SPRING WHEAT GENETIC PANELS STUDIED IN KAZAKHSTAN

Turuspekov Y.<sup>1</sup>, Amalova A.<sup>1</sup>, Genievskaia Y.<sup>1</sup>, Abdikhalyk A., Babkenov A.<sup>2</sup>, Rsaliyev A.<sup>3</sup>, Abugaliyeva S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan*

<sup>2</sup>*Barayev Research and Production Center of Grain Farming, Shortandy, Kazakhstan*

<sup>3</sup>*The Research Institute for Biological Safety Problems, Otar, Kazakhstan*

[yerlant@yahoo.com](mailto:yerlant@yahoo.com)

Spring wheat is the largest agricultural crop grown in Kazakhstan with an annual sowing area of 12 million hectares in 2018. Annually, the country harvests around 15 million tons of high quality grain. Despite environmental stress factors, it is predicted that the use of new technologies may lead to increases in productivity from current levels of 1.5 to up to 3 tons per hectare. One way of improving wheat productivity is by the application of new genomic oriented approaches in plant breeding projects. In this study, phenotyping and genotyping data on spring wheat accessions from Kazakhstan, Russia, and Europe were assessed for the identification of marker-trait associations (MTA) of agronomic traits by using genome-wide association study (GWAS) and two bi-parental mapping populations (BPMP).

Field trials in Northern, South and South-eastern regions of Kazakhstan using GWAS and BPMP revealed strong correlations of yield with booting date, plant height, biomass, number of spikes per plant, and number of kernels per spike. The genetic variation in the three groups of accessions was further studied using 3245 polymorphic SNP (single nucleotide polymorphism) markers. The application of Principal Coordinate analysis clearly grouped the 194 accessions into three clades according to their breeding origins. GWAS and BPMP approaches from two field trials allowed the identification of MTAs for 12 different agronomic traits, associated with plant adaptation, yield-related components, and disease resistance.

Field evaluation of foreign germplasm revealed its poor yield performance in Northern Kazakhstan, which is the main wheat growing region in the country. However, it was found that EU germplasm has high breeding potential to improve yield performance in South and South-eastern regions. The study identifies a group of key quantitative trait loci for improvement of yield productivity in three wheat growing regions of Kazakhstan.

**Acknowledgements:** This work was supported by projects 0118PK01352 and 0118PK01308 in scientific and technical programs of Kazakhstan BR06249219 and BR06249329 (2018-2020 years), respectively.

## FOOTPRINTS OF CHINESE WHEAT GENOME HIGHLIGHTS THE BASIS FOR SUCCESSFUL VARIETIES

Zhang X., Wang Z., Hao C., Zhao J., Li T., Hou J., Liu H. X.

*Institute of Crop Sciences, CAAS, Beijing 100081, China*

*zhangxueyong@caas.cn*

**Abstract** Common wheat (*Triticum aestivum* L.) is the most important crop, which provides about 20% of the total calories for humans. It used to be an excellent modern species for studying concerted evolution of sub-genomes in polyploid species, because of its big chromosome size and the three well-known genome donors. Establishment of common wheat genome reference sequence and development of high density of SNP chips provide excellent foundation to answer some questions of evolution and breeding at the genomic level. After genotype more than 1000 collections of common wheat and its diploid and tetraploid ancestors by the 660K SNP chip, we found both tetraploidization and hexaploidization induced revolutionary change in the subgenomes, in contrast, influence of domestication and breeding to sub-genomes are much weaker. Hexaploidization induced significant rearrangements on harmonization of A- and B- genomes once again. Furthermore, since common wheat was introduced into China 1500 BC, Chinese farmer also contributed to make consequent domestication to wheat, in which wheat landraces formed two subgroups (*T. aestivum*-L1 and *T. aestivum*-L2) with considerably diverse geographic distribution and agronomic traits. The *T. aestivum*-L2 mainly distributes in central-east China, and is found to have more but smaller grains with earlier mature character. We found that variation and selection to intergenic regions of the A- and B- genomes dominated this domestication in China, in which 7A and 3B took the leading roles. We discovered that artificial crosses in breeding promoted recombination in whole genome, however, this recombination and differentiation was highly asymmetric among the three subgenomes at the homological regions. In addition, we found that early breeding reshaped the wheat genome, and the later breeding functions was to optimize it. The formation of haplotype blocks was strongly related with human selection in domestication and breeding. In summary, through this work, we reconsidered the evolution and breeding of common wheat, and obtained a new angle for selection of parent and breeding strategy.

## TRANSLATIONAL GENOMICS FOR CROP IMPROVEMENT: EXPERIENCES AT ICRISAT

Varshney R. K.

*Center of Excellence in Genomics & Systems Biology (CEGSB), Global Research Program-Genetic Gains, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT), Patancheru-502324, India*

[r.k.varshney@cgiar.org](mailto:r.k.varshney@cgiar.org)

### **Abstract**

Although crop improvement programs have made excellent progress in enhancing crop productivity and production, there is still a huge scope to fill the yield gap for majority of crops especially dryland crops in developing countries. Genomics-assisted breeding can help enhancing crop productivity as well as nutrition in many dryland crops. However, until recently, majority of the dryland crops have remained untouched with genomics revolution. Two key reasons for this situation include engagement of only few institutes and availability of limited resources at international level for research and development in these crops. With an objective to address these issues, the Center of Excellence in Genomics and Systems Biology (CEGSB) at International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT) floated several multi-institutional consortia. As a result of collaborative efforts from such strong partnership, a large number of genomic resources including genome assemblies for 11 crops have been developed and several improved lines have been developed through molecular breeding. In brief, translational genomics approach has transformed the so-called ‘orphan crops’ to ‘genomic resources-rich crops’ and contributed to develop several improved lines in dryland crops. This presentation will present experiences of CEGSB- ICRISAT and its partners in translational genomics for developing improved varieties with higher yield and better nutrition in dryland crops in developing countries.

# ТЕЗИСЫ ПОСТЕРНЫХ ДОКЛАДОВ / ABSTRACTS OF POSTER PRESENTATIONS

## Симпозиум I: Репликация, транскрипция, трансляция / Symposium I: Replication, Transcription, Translation

### ВЛИЯНИЕ CLOSED-LOOP СТРУКТУРЫ мРНК НА ТЕРМИНАЦИЮ ТРАНСЛЯЦИИ ЭУКАРИОТ

Бизяев Н.С.<sup>1,2</sup>, Шувалов А.В.<sup>1</sup>, Егорова Т.В.<sup>1</sup>, Алкалаева Е.З.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Россия, Москва, ул. Вавилова, 32, 119991;

<sup>2</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 12, 119192  
[nikita.biz@mail.ru](mailto:nikita.biz@mail.ru)

Пространственная организация мРНК у эукариот играет значительную роль в её трансляции. Общепринятое мнение, что в клетках наряду с линейными транслируемыми мРНК образуются и кольцевые мРНК (closed-loop структуры) со сближенными 5' и 3' концами. В последнее время появляются также факты, свидетельствующие о формировании closed-loop структур со сближенными стоп кодоном и поли(А) хвостом мРНК, находящемся на 3' конце [1,2]. Более того, обнаружено, что поли(А)-связывающий белок (РАВР) взаимодействует как с факторами инициации трансляции, находящимися на 5'-конце мРНК, так и с фактором терминации трансляции eRF3 [1]. Таким образом РАВР повышает эффективность как инициации, так и терминации трансляции. Это может указывать на одновременное сосуществование двух рассмотренных выше closed-loop структур и на функциональное значение сближения стоп кодона и поли(А) хвоста в терминации трансляции, что на настоящий момент экспериментально не было показано.

Поэтому нами было изучено влияние пространственной организации мРНК на эффективность терминации в реконструированной *in vitro* системе трансляции. Для нарушения closed-loop структуры мы использовали anti-sense ДНК олигонуклеотиды, комплементарные 3'-НТО, находящейся между стоп кодоном и поли(А) хвостом. Мы предположили, что образование протяженных РНК-ДНК гибридных участков должно существенно снижать гибкость 3'-НТО мРНК. Далее мы определяли эффективность терминации трансляции на таких гибридных мРНК молекулах.

1. Ivanov A. et al. PABP enhances release factor recruitment and stop codon recognition during translation termination //Nucleic acids research. – 2016. – Т. 44. – №. 16. – С. 7766-7776.

2. Hoshino S. et al. The Eukaryotic Polypeptide Chain Releasing Factor (eRF3/GSPT) Carrying the Translation Termination Signal to the 3'-Poly (A) Tail of mRNA direct association of eRF3/GSPT with polyadenylate-binding protein //Journal of Biological Chemistry. – 1999. – Т. 274. – №. 24. – С. 16677-16680.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ № 19-14-00349 и программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (No. 1201363822).

## АКТИВНОСТЬ PRIMPOL ЧЕЛОВЕКА НА ДНК-СУБСТРАТАХ, СОДЕРЖАЩИХ БРЕШИ

Болдинова Е.О.<sup>1</sup>, Белоусова Е.А.<sup>2</sup>, Мальцева Е.О.<sup>2</sup>, Ходырева С.Н.<sup>2</sup>, Лаврик О.И.<sup>2</sup>,  
Макарова А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной генетики РАН, Россия, Москва, пл. Ак. Курчатова, 2;

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия,  
Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

[lizaboldinova@yandex.ru](mailto:lizaboldinova@yandex.ru)

Праймаза/полимераза человека PrimPol обладает ДНК-полимеразной и ДНК/РНК-праймазной активностями. PrimPol играет важную роль в поддержании стабильности генома при репликации. Предполагается, что основная функция PrimPol — реинициация синтеза ДНК после остановки реплисомы на поврежденных участках ДНК (ДНК-праймазная активность). PrimPol также эффективно включает нуклеотиды напротив повреждений ДНК и может участвовать с транслезионном синтезе (ДНК-полимеразная активность).

В ДНК в ходе репарации часто образуются одноцепочечные бреши. В настоящей работе мы тестировали активность PrimPol на ДНК-субстрате с 5-ти-нуклеотидной брешью. Показано, что PrimPol эффективно осуществляет синтез ДНК на субстрате с одноцепочечной брешью *in vitro*, в том числе содержащей повреждение 8-охо-Г. Было показано, что PrimPol обладает активностью по вытеснению цепи, запирающей брешь. Данная активность значительно стимулируется добавлением ионов  $Mn^{2+}$  в качестве кофактора.

Показано, что активность PrimPol по вытеснению цепи и ДНК-полимеразная активность стимулируется регуляторным белком PolDIP2 и флэп-эндонуклеазой FEN1 *in vitro*. Кроме того, показано, что вытесненные PrimPol фрагменты ДНК могут отщепляться FEN1. Функциональное взаимодействие PrimPol с FEN1 и PolDIP2 было подтверждено коэкспрессией белков в клетках *E. coli* и успешным выделением комплексов, а также образованием белковых сшивок с помощью глутарового альдегида.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-14-00354.

## ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ДНК-АПТАМЕРОВ К СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЕ ЧЕЛОВЕКА POL $\eta$

К.А. Бондаренко<sup>1</sup>, А.В. Макарова<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва;

*amakarova-img@yandex.ru*

Основной функцией ДНК-полимеразы Pol  $\eta$  является репликация поврежденной ДНК. Pol  $\eta$  с высокой эффективностью и точностью включает нуклеотиды напротив тимин-тиминовых димеров, которые образуются под влиянием ультрафиолетового излучения. Нарушение функции Pol  $\eta$  человека приводит к заболеванию пигментная ксеродерма (XP-V фенотип) и повышает вероятность развития рака кожи. Pol  $\eta$  также эффективно синтезирует ДНК на матрицах, содержащих цисплатиновые сшивки и участвует в развитии резистентности ряда опухолей к химиотерапевтическим препаратам соединений платины. Ингибирование активности Pol  $\eta$  может повысить чувствительность опухолевых клеток к химиотерапии.

В качестве ингибиторов нами были получены ДНК-аптамеры к Pol  $\eta$ . Аптамеры – это одноцепочечные молекулы ДНК или РНК, обладающие определенной пространственной структурой и способные специфически связываться с важными функциональными участками ферментов, во многих случаях подавляя каталитическую активность. Для получения аптамеров с заданными свойствами была использована технология SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment – систематическая эволюция лигандов путем экспоненциального обогащения).

Было получено 3 высокоафинных ДНК-аптамера длиной 75 нуклеотидов с крайне высокой ингибирующей активностью по отношению к Pol  $\eta$ . Показано, что полученные аптамеры специфичны к Pol  $\eta$  и не подавляют активность других ДНК-полимераз человека. Во вторичной структуре всех полученных аптамеров присутствует G-квадруплекс, что может быть связано с положительным влиянием на стабильность аптамеров.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-04-00777

## ВЛИЯНИЕ ЯДЕРНОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ИЗОФОРМ PolDIP2 НА АКТИВНОСТЬ PRIMPOL

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

*Институт молекулярной генетики РАН, Россия, Москва,*

*deanaw@yandex.ru*

Мультифункциональный регуляторный белок PolDIP2 представлен в клетке в двух изоформах: полноразмерной (ядерной) и укороченной (митохондриальной). Полноразмерная форма (42 кДа) содержит N-концевую митохондриально-направленную последовательность в виде  $\alpha$ -спирали, богатой положительно-заряженными аминокислотами, и два основных функциональных домена: С-концевой домен DUF525 и полуметилированный YscV-подобный домен. Митохондриальная форма PolDIP2 (38 кДа) лишена N-концевой последовательности, которая отщепляется при попадании в митохондрию. Ядерная форма PolDIP2 стимулирует активность ДНК-полимераз разных семейств: праймазы-полимеразы PrimPol, а также ДНК-полимераз Pol  $\delta$ , Pol  $\lambda$ , Pol  $\eta$ . PolDIP2 повышает сродство ДНК-полимераз к ДНК, увеличивая эффективность и точность синтеза на разных типах ДНК-матриц. Однако функция митохондриальной формы остается неизвестной.

Нами были получены продуценты ядерной и митохондриальной изоформ PolDIP2 в клетках *E. coli* штамма Rosetta2, кодирующего гены редких tРНК. Белки PolDIP2, слитые на N-конце с 6xHIS-тагом или GST-тагом, были выделены с помощью аффинной и металл-хелатной хроматографии. Показано, что укороченная митохондриальная изоформа PolDIP2, в отличие от полноразмерной ядерной изоформы, практически не оказывает влияния на активность PrimPol и Pol  $\eta$ . Одновременная экспрессия двух изоформ PolDIP2 с PrimPol показала, что стабильный комплекс между PrimPol-PolDIP2 образуется только с ядерным вариантом регуляторного белка. Полученные результаты указывают на ключевую роль N-концевой митохондриально-направленной последовательности в функциональном взаимодействии PolDIP2 с PrimPol и, возможно, другими ДНК-полимеразами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 18-14-00354.

## МИНИГЕН TURBOGFP ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССИНГА ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ КОРОТКИХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Даянова Л.К., Патрушев Л.И.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Макляя, 16/10

[l.daianowa@yandex.ru](mailto:l.daianowa@yandex.ru)

Короткие некодирующие РНК, длина которых не превышает 200 нт, составляют значительную часть транскриптома многоклеточных организмов и часто выполняют важные регуляторные функции. МикроРНК (миРНК) представляют один из самых известных классов коротких некодирующих РНК длиной в 18-25 нт, которые участвуют в регуляции экспрессии генов, в основном, на посттранскрипционном уровне. В настоящее время известны тысячи регуляторных миРНК, и этот список постоянно расширяется. Методы биоинформатики позволяют предсказывать гены предполагаемых новых миРНК, что становится возможным благодаря характерным особенностям их первичной и вторичной структуры. Такие предсказания не являются доказательством наличия новых генов, и функциональность таких последовательностей требует экспериментального подтверждения. С этой целью мы разработали новую векторную систему, которая позволяет исследовать функциональность предполагаемых последовательностей генов миРНК, обеспечивая мониторинг процессинга их предшественников в культивируемых клетках человека. Наш вектор кроме стандартных основных элементов содержит рекомбинантный ген TurboGFP под контролем сильного цитомегаловирусного промотора. Во внутреннюю часть этого гена введен короткий искусственный интрон длиной в 61 п.н., содержащий все необходимые сайты сплайсинга, а также три уникальных сайта рестрикции, которые допускают клонирование изучаемой последовательности нуклеотидов. Наличие в гене TurboGFP такого мини-интрона предотвращает его экспрессию, и клетки, трансфицированные этим вектором, не флуоресцируют. Введение в мини-интрон чужеродной последовательности длиной в 100-400 нуклеотидов сопровождается эффективным сплайсингом с освобождением клонированной последовательности и восстановлением флуоресценции TurboGFP. Правильный процессинг предшественников миРНК в разработанной системе был продемонстрирован с использованием предполагаемого гена природной миРНК hsa-miR1273a, существование которой в последнее время подвергалось сомнению.

## РОЛЬ ФАКТОРА ИНИЦИАЦИИ eIF3j В ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Егорова Т.В.<sup>1</sup>, Зотова М.И.<sup>1,2</sup>, Кущенко А.С.<sup>1</sup>, Соколова Е.Е.<sup>1</sup>, Шувалов А.В.<sup>1</sup>,  
Алкалаева Е.З.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Россия, Москва, ул. Вавилова, д.32; <sup>2</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д.2, стр.4.

[tatvladegorova@gmail.com](mailto:tatvladegorova@gmail.com)

Белок eIF3j долгое время считался 13 субъединицей фактора инициации eIF3. Но в последнее время его называют eIF3-ассоциированным фактором, так как eIF3j очень слабо ассоциирован с eIF3 как у дрожжей, так и у млекопитающих. Ранее было показано, что eIF3j содействует диссоциации мРНК во время рециклинга рибосом (Pisarev et al., 2007). Более того выяснилось, что его дрожжевой гомолог, HCR1, связывается с полисомами, а основной функцией HCR1 в клетке является регуляция терминации трансляции и сквозного прочтения стоп кодонов (Beznoskova et al., 2013). Остается неизвестным, верно ли то же самое для eIF3j человека.

Мы проверили активность фактора eIF3j человека, двух дополнительных его изоформ, а также мутантных форм этого белка в терминации трансляции. Используя реконструированную *in vitro* систему трансляции млекопитающих мы показали, что eIF3j стимулирует терминацию трансляции. Он улучшает как эффективность распознавания стоп кодона, так и эффективность гидролиза пептидил-тРНК факторами терминации. А для активности eIF3j в терминации трансляции необходим его С-концевой регион. Таким образом, мы показали, что фактор инициации трансляции eIF3j человека, как и его дрожжевой гомолог, вовлечен в регуляцию терминации трансляции.

[1]. Pisarev A.V., Hellen C.U.T., Pestova T.V., Recycling of eukaryotic posttermination ribosomal complexes. // 2007, Cell, 131:286–299.

[2]. Beznosková P., Cuchalová L., Wagner S., Shoemaker C.J., Gunišová S., Von der Haar T., Valášek L.S., Translation initiation factors eIF3 and HCR1 control translation termination and stop codon read-through in yeast cells. // 2013, PLoS Genet., 9:e1003962.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00642.

## УЧАСТИЕ ИЗОФОРМ ФАКТОРА eRF1 ЧЕЛОВЕКА В ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ

Иванова С.Д.<sup>1</sup>, Шувалов А.В.<sup>1</sup>, Егорова Т.В.<sup>1</sup>, Шувалова Е.Ю.<sup>1</sup>, Соколова Е.Е.<sup>1</sup>,  
Алкалаева Е.З.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Россия, Москва, ул. Вавилова, 32*

*ivanovasofia101@gmail.com*

Терминация трансляции эукариот осуществляется двумя белковыми факторами eRF1 и eRF3. Основная изоформа eRF1 достаточно подробно исследована, однако помимо нее существуют еще как минимум две неохарактеризованные изоформы, отличающиеся строением N-конца. Их существование на белковом уровне доказано методом масс-спектрометрии [1]. По данным дифференциальной экспрессии, в здоровых тканях присутствует в среднем 0-3% транскриптов, соответствующих изоформе 2, однако в некоторых типах опухолевых клеток их количество может существенно возрасти, а также появляется до 10% мРНК, соответствующей изоформе 3. Отличия данных форм белка от основной ограничиваются 30 аминокислотными остатками на N-конце, которые важны для распознавания стоп кодонов и функциональной укладки всего N домена белка. При этом у изоформ сохраняются домены, участвующие во взаимодействии с некоторыми участками рибосомы и фактором терминации eRF3. Мы получили изоформы 2 и 3 фактора терминации eRF1 человека и описали их физические и функциональные свойства. Оказалось, что заряд и стабильность альтернативных изоформ eRF1 существенно изменяются, что в свою очередь влияет на их активность в трансляции.

Полученные данные вносят вклад в описание молекулярного механизма эукариотической трансляции и потенциально могут быть полезны в исследованиях регуляции синтеза белка в раковых клетках.

[1]. Ezkurdia et al, Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19,000 human protein-coding genes. // 2014, Hum Mol Genet., V.23(22), P.5866-5878

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-04-00909 и программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (No. 1201363822).

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВЫХ ПОТЕНЦИАЛЬНО-ПАТОГЕННЫХ ВИДОВ КАМПИЛОБАКТЕРИЙ

Котельникова А. А., Баннов В. А.,

ВЕТ ФАКТОР, Россия, Москва, Троицк, ул.Промышленная, д.2, 14219;

[Alexsandra.Kotelnikova@yandex.ru](mailto:Alexsandra.Kotelnikova@yandex.ru)

Кампилобактериоз – острая зоонозная инфекция с фекально-оральным механизмом передачи, которая характеризуется поражением желудочно-кишечного тракта и интоксикацией. Это заболевание привлекает к себе особое внимание в связи со следующими особенностями:

- резкий рост заболеваемости в Северной Америке, Европе и Австралии в последние 10 лет,
- в зависимости от вида возбудителя клинические проявления и течение болезни могут существенно отличаться,
- многие вопросы механизма заболевания и систематики кампилобактериозов еще остаются незакрытыми, при этом число видов кампилобактерий постоянно пополняется,
- вероятность распространения заболевания среди животных и людей увеличивается с каждым годом за счет роста туризма и появления новых крупных животноводческих комплексов.

Эта инфекция вызывается грамотрицательными неспорообразующими бактериями рода *Campylobacter*. Большинство из них подвижны благодаря наличию двух биполярно расположенных жгутиков имеют изогнутую или спиралевидную форму. Основным природным резервуаром инфекции являются сельскохозяйственные и дикие животные, а также птицы. Носителями возбудителя также могут быть домашние животные, здоровые и больные люди.

К наиболее патогенным видам в настоящее время относят *C. jejuni*, *C. coli* и *C. fetus*, однако растет понимание клинической важности новых видов *Campylobacter*, например, *C. concisus* и *C. ureolyticus*.

Один из основных факторов патогенности *Campylobacter* spp. это cytolethal distending токсин (CDT), кодируемый тремя соседними генами (*cdtA*, *cdtB*, *cdtC*). Каждый из этих трех генов необходим для полной токсиновой активности: *cdtB* кодирует активный / токсический компонент токсина, в то время как *cdtA* и *cdtC* участвуют в связывании и интернализации токсина в клетку-хозяина.

Ряд исследователей полагает, что CDT продуцируют только некоторые штаммы - *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* и *C. fetus*, но, по-видимому, не существует какой-либо корреляции между продукцией CDT и биотипом, серотипом и источником возбудителя.

Однако возможность других видов кампилобактерий продуцировать этот токсин изучена не так широко.

Целью данного исследования является выявление новых потенциально-патогенных видов кампилобактерий от животных с помощью ПЦР. Для реализации этой цели разработана система специфичных праймеров, позволяющая выявить нуклеотидные последовательности *cdt* (*cdtA*, *cdtB*, *cdtC*) в различном исследуемом материале.

## НОВЫЕ ФАКТОРЫ, МОДУЛИРУЮЩИЕ ЭФФЕКТ КОНТЕКСТА СТОП КОДОНА НА ТЕРМИНАЦИЮ ТРАНСЛЯЦИИ У ЭУКАРИОТ

Соколова Е.Е.<sup>1</sup>, Шувалов А.В.<sup>1</sup>, Егорова Т.В.<sup>1</sup>, Торопыгин И.Ю.<sup>2</sup>, Алкалаева Е.З.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Россия, Москва, 19991, ул. Вавилова, д. 32;* <sup>2</sup> *Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Россия, Москва, 119121, ул. Погодинская, д. 10,*

*elizavetaesokolova@gmail.com*

Нуклеотидное окружение стоп кодонов играет важную роль в терминеции трансляции. Контексты, неблагоприятные для терминеции, стимулируют сквозное прочтение, что может выступать важным регуляторным механизмом. Ранее мы продемонстрировали в реконструированной системе трансляции, что в присутствии супрессорных или near-cognate тРНК эукариотическая рибосома способна сама по себе распознавать слабые 3' контексты и проходить через стоп кодон, осуществляя дальнейший синтез полипептидной цепи. Уровень сквозного прочтения на выбранных нами слабых 3' контекстах достигал более 80%. Однако в живых клетках эти показатели значительно ниже. По-видимому, в распознавании неблагоприятных контекстов участвуют еще дополнительные факторы, которые влияют на эффективность терминеции. С помощью метода toe-print мы исследовали эффект от различных белковых факторов, принимающих участие в трансляции, на распознавание рибосомой слабого и сильного терминеционного сигнала. Оказалось, что в условиях конкуренции за распознавание стоп кодонов между факторами терминеции и тРНК, фактор инициации eIF3 вызывал значительное разрушение пост-терминеционных рибосомных комплексов только на сильном 3' контексте. Известно, что фактор инициации eIF3 вовлечен в терминецию трансляции [1] и влияет на уровень сквозного прочтения в зависимости от 3' контекста стоп кодонов, но механизм его действия не выявлен. Мы предполагаем, что рибосомные комплексы закрепляются и стабилизируются на слабых последовательностях, следующих за стоп кодоном за счет возможного взаимодействия 3' контекстов мРНК и последовательности 18 рРНК. В то же время на сильных 3' контекстах, благоприятных для терминеции, пост-терминеционные комплексы дестабилизируются фактором eIF3.

[1] Beznosková P, Wagner S, Jansen ME, von der Haar T, Valášek LS, Translation initiation factor eIF3 promotes programmed stop codon readthrough. // 2015, Nucleic Acids Res., 26; 43(10), P. 5099-111

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-14-00349 и программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (No. 1201363822).

## АКТИВНОСТЬ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ ЧЕЛОВЕКА НА МЕТИЛИРОВАННЫХ ДНК-МАТРИЦАХ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Шилкин Е.С., Полтораченко В.А., Жарков Д.О., Макарова А. В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики РАН, 123182, г. Москва, пл. Ак. Курчатова 2; e-mail:

[shilkinevgeniy.chem@gmail.com](mailto:shilkinevgeniy.chem@gmail.com)

5-метилцитозин (mC) и продукт окисления mC – 5-гидроксиметилцитозин (hmC) – играют ключевую роль в эпигенетической регуляции работы генов, механизмах дифференцировки клеток, а также канцерогенезе. CpG сайты, содержащие mC и hmC являются горячими точками мутагенеза геномной ДНК. Основным механизмом мутагенеза в CpG сайтах является спонтанное дезаминирование модифицированных оснований цитозина. В то же время повреждения или модификации ДНК могут играть роль в возможном альтернативном механизме мутагенеза, источником которого является промутагенный синтез ДНК напротив сайта модификации высокоошибочными транслезионными и репаративными ДНК-полимеразами.

Целью данной работы является оценка точности синтеза ДНК на ДНК-матрицах, содержащих mC и hmC ДНК-полимеразами человека: Pol iota, Pol eta, Pol beta, Pol lambda, Pol kappa и PrimPol. Мы протестировали ДНК-полимеразную активность и включение индивидуальных dNTPs ДНК-полимераз на матрицах, содержащих C, mC или hmC. Было показано, что наличие в матричной ДНК mC или hmC не изменяет спектра включения нуклеотидов в случае Pol beta, Pol kappa и PrimPol. В то же время, Pol iota продемонстрировала значительное снижение включения dCTP напротив mC и hmC по сравнению с C. Кроме того, Pol lambda показала увеличенное включение dGTP и незначительное увеличение общей ДНК-полимеразной активности напротив mC по сравнению с C и hmC.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 17-00-00264 (АВМ) и 17-00-00261 (ДОЖ).

## ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИЕ С РАВР БЕЛКИ, PAIP1 И PAIP2, УЧАСТВУЮТ В ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ

Иванов А.В.<sup>1</sup>, Шувалова Е.Ю.<sup>1</sup>, Егорова Т.В.<sup>1</sup>, Теренин И.М.<sup>2</sup>, Алкалаева Е.З.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН,  
Россия, Москва, ул. Вавилова 32;

<sup>2</sup>Институт Физико-Химической биологии имени А.Н. Белозерского,  
Россия, Москва, Ленинские Горы д1 стр 40.

*Shuvalov@eimb.ru*

Терминация трансляции до сих пор остается мало изученным этапом биосинтеза белка. До недавнего времени было известно лишь два фактора, участвующих в этом процессе, у эукариот это eRF1, распознающий стоп кодон и гидролизующий пептидил-тРНК, а также eRF3, стимулирующий активность eRF1. Однако за последние годы было показано, что и другие белковые факторы также могут принимать участие в терминации. Так, например, полиаденилат-связывающий белок (РАВР) стимулирует терминацию трансляции путем взаимодействия его С-концевого домена с eRF3 [1]. Кроме того, РАВР взаимодействует с белками PAIP1 и PAIP2, которые связывают РАВР и регулируют его активность в трансляции [2]. Поскольку PAIP1/2 и eRF3 взаимодействуют с одним и тем же доменом СТС РАВР, они могут конкурировать за его связывание, влияя на терминацию трансляции.

Мы показали влияние PAIP1 и PAIP2 на терминацию трансляции в присутствии РАВР, а также на эффективность сквозного прочтения стоп кодона. В реконструированной системе трансляции PAIP2 подавлял стимулирующие эффекты свободного РАВР в терминации, скорее всего, мешая взаимодействию РАВР с eRF3. При тех же условиях PAIP1 проявлял двойной эффект на терминацию трансляции. С одной стороны, он конкурировал с eRF3 за связывание со свободным РАВР, тем самым снижая эффективность терминации, а с другой, повышал эффективность формирования пост-терминационного комплекса путем взаимодействия с eRF3 даже в отсутствие РАВР. Однако, оба PAIP не смогли подавить активацию терминации трансляции РАВР, связанного с поли(А) хвостом. Также мы показали, что как PAIP1, так и PAIP2 способны увеличивать эффективность сквозного прочтения преждевременных стоп кодонов в бесклеточной системе трансляции.

Основываясь на наших данных, мы предполагаем, что одна из функций PAIP1 и PAIP2 в трансляции заключается в предотвращении терминации на преждевременных стоп кодонах, посредством связывания свободного РАВР.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ 19-14-00349 и программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (No. 1201363822).

[1]. Ivanov A. et al. PABP enhances release factor recruitment and stop codon recognition during translation termination // 2016, NAR, T. 44. №. 16, С. 7766-7776.

[2]. Craig A. W. B. et al. Interaction of polyadenylate-binding protein with the eIF4G homologue PAIP enhances translation // 1998, Nature, T. 392. №. 6675, С. 520.

## ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ДОМСТИЦИРОВАННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В СТРЕССОВОМ ОТВЕТЕ У *Drosophila melanogaster*

Нефедова Л.Н., Махновский П.А., Балакирева Е.И., Чередеева В.Д., Ким А.И.

<sup>1</sup>Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

[lidia\\_nefedova@mail.ru](mailto:lidia_nefedova@mail.ru)

В ходе коэволюции хозяйского генома и его мобильного компонента, представленного мобильными генетическими элементами (МГЭ), может происходить молекулярная доместикация последовательностей МГЭ – адаптация их функций на пользу организма-хозяина. Молекулярная доместикация одного из типов МГЭ – ретротранспозонов с длинными концевыми повторами (ДКП-ретротранспозонов) – играет важную эволюционную роль у многих эукариот, поскольку у целого ряда видов, в том числе дрожжей, дрозофилы, большинства млекопитающих, мобильный компонент генома представлен, главным образом, ретротранспозонами, среди которых значительное место занимают ДКП-ретротранспозоны. Для всех трех открытых рамок считывания ДКП-ретротранспозонов (*gag*, *pol* и *env*) известны случаи молекулярной доместикации. Примером одной из наиболее успешных доместикаций последовательности *gag* являются гены, кодирующие домен SCAN, характерный для транскрипционных факторов млекопитающих. Наиболее изученным примером доместикации последовательности *env*, являются гены семейства синцитинов (*Syntyctins*), которые участвуют в процессе формирования плаценты. Молекулярная доместикация ДКП-ретротранспозонов у беспозвоночных изучена слабо, несмотря на то, что ДКП-ретротранспозоны широко представлены в их геномах и могут играть существенную роль в их эволюции. У *Drosophila* известны два примера доместикации генов *env* и *gag* ДКП-ретротранспозонов – это гены с неизвестной функцией *Iris* и *Gagr* [1, 2]. В результате исследований, направленных на выяснение функции гена *Gagr*, определен характер его онтогенетической и тканеспецифической экспрессии, а также выявлена локализация его белкового продукта в мембране, что указывает на приобретение доместицированным геном *gag* в ходе эволюции нового домена [3]. В результате воздействия различными стресс-индуцирующими факторами показано, что ген *Gagr* активируется в ответ на окислительный стресс и определенную бактериальную и вирусную инфекцию. Исследование экспрессии генов стрессового ответа у мутанта с инактивированным геном *Gagr* показало, что экспрессия ключевых генов основных сигнальных путей у мутанта не изменена, однако экспрессия некоторых эффекторных генов сигнальных путей значительно подавлена. Обнаружено, что активация гена *Gagr* связана с регуляторами, вовлеченными в ЭПР-стресс. Таким образом, продукт гена *Gagr* может быть локализованным в мембране ЭПР и задействован в ответе на ЭПР-стресс.

[1]. Malik H.S., Henikoff S. Positive selection of *Iris*, a retroviral envelope-derived host gene in *Drosophila melanogaster* // 2005, PLoS Genetics, V.1(4), e44.

[2]. Nefedova L.N., Kim A.I. Molecular evolution of mobile elements of the gypsy group: a homolog of the *gag* gene in *Drosophila* // 2009, Genetika, V.45(1), P.30–37.

[3]. Nefedova L.N., Kuzmin I.V., Makhnovskii P.A., Kim A.I. Domesticated retroviral GAG gene in *Drosophila*: new functions for an old gene // 2014, Virology, V.450–451, P.196–204.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-04-01250

## ШИРОКОМАСШТАБНЫЙ ПОИСК НУКЛЕОТИДНЫХ МОТИВОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ПРОЦЕСС ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Пиндюрин А.В.<sup>1</sup>, Болдырева Л.В.<sup>1</sup>, Иванкин А.В.<sup>1</sup>, Летягина А.Е.<sup>1,2</sup>, Омелина Е.С.<sup>1</sup>,  
Яринич Л.А.<sup>1,2</sup>, Лебедев М.О.<sup>1,2</sup>, Кожевникова Е.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, пр-т акад.  
Лаврентьева 8/2; <sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул.  
Пирогова, 1

[asd@mcb.nsc.ru](mailto:asd@mcb.nsc.ru)

Весомый вклад в пространственно-временную и оперативную регуляцию активности генов в клетках млекопитающих вносит процессирование (созревание) мРНК. Регуляторная роль районов, расположенных в 3'-области гена и лежащих в основе терминации транскрипции и процессирования мРНК, изучена не полностью. Исследования до сих пор были затруднены, в частности, отсутствием методических возможностей систематического поиска функциональных ДНК-мотивов, расположенных за пределами сигналов полиаденилирования генов (не входящих в зрелые полиаденилированные транскрипты). Мы показали, что делеция лишь одного нуклеотида в 3'-области репортёрного гена, в 32 п.н. ниже сигнала полиаденилирования, приводит к двукратному усилению его экспрессии в разных типах культивируемых клеток, как мыши, так и человека. Мы выяснили, что данный эффект обусловлен более стабильным разрезанием транскрипта в 14 нуклеотидах ниже сигнала полиаденилирования.

Мы разработали модификацию мультиплексного анализа MPFA (Massively Parallel Functional Assay) для широкомасштабного функционального анализа 3'-участков ДНК модельного репортёрного гена. Этот подход позволяет измерять и индивидуально идентифицировать уровень транскрипционной активности одновременно десятков тысяч трансгенов. Данным методом мы исследовали регуляторный потенциал 3'-области, впоследствии удаляющейся при созревании мРНК. Мы установили, что различные мутации в этом районе способны как полностью подавлять, так и усиливать более чем в 100 раз экспрессию вышерасположенного репортёрного гена. Таким образом, мы обнаружили, что регуляторный потенциал терминирующих областей гена у млекопитающих сопоставим с таковым энхансерных элементов. Выявленные нами 3'-мотивы ДНК, усиливающие экспрессию гена, могут быть практически использованы при разработке генно-инженерных конструкций.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ #16-14-10288.

## ВЗАИМНОЕ УЧАСТИЕ БЕЛКОВ DDX19 И GLE1 ЧЕЛОВЕКА В ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ

Шувалов А.В.<sup>1</sup>, Егорова Т.В.<sup>1</sup>, Соколова Е.Е.<sup>1</sup>, Шувалова Е.Ю.<sup>1</sup>, Алкалаева Е.З.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН; Москва, ул. Вавилова, д32  
[Shuvalov@imb.ru](mailto:Shuvalov@imb.ru)

Хорошо известно, что в терминации трансляции эукариот ключевую роль играет фактор терминации трансляции первого класса eRF1, работа которого стимулируется фактором терминации второго класса eRF3. Однако, в экспериментах *in vitro* оба этих фактора не способны обеспечивать наблюдаемую *in vivo* эффективность терминации. Это предполагает вовлеченность дополнительных факторов в обеспечение эффективности терминации трансляции. За последние годы были обнаружены несколько таких факторов (ABCE1, eIF5A и др.). В частности в нашей лаборатории было показано, что терминация трансляции стимулируется деацелированной тРНК [1], PABP [2], DDX19 [3], Gle1.

DDX19 является АТФ-зависимой хеликазой вовлеченной в экспорт РНК из ядра совместно со своим белком-партнером Gle1. Ранее мы показали, что DDX19 связывается с претерминационными комплексами рибосом и стимулирует распознавание стоп-кодона фактором eRF1 [3]. Кроме того, мы обнаружили, что Gle1 независимо связывается с eRF1 и стимулирует гидролиз пептидил-тРНК.

В настоящей работе мы представляем данные о взаимном влиянии DDX19 и Gle1 на различные этапы терминации трансляции в различных условиях *in vitro*: связывание с претерминационными и терминационными комплексами рибосом, стимуляцию распознавания стоп-кодонов и гидролиз пептидил-тРНК, влияние на стабильность посттерминационных комплексов.

[1]. Susorov D. et al. Stabilization of eukaryotic ribosomal termination complexes by deacylated tRNA //Nucleic acids research. – 2015. – Т. 43. – №. 6. – С. 3332-3343.

[2]. Ivanov A. et al. PABP enhances release factor recruitment and stop codon recognition during translation termination //Nucleic acids research. – 2016. – Т. 44. – №. 16. – С. 7766-7776.

[3]. Mikhailova T. et al. RNA helicase DDX19 stabilizes ribosomal elongation and termination complexes //Nucleic acids research. – 2016. – Т. 45. – №. 3. – С. 1307-1318.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ 19-14-00349 и программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (No. 1201363822).

**Симпозиум II: Экологическая генетика и генетическая токсикология /  
Symposium II: Ecological Genetics and Genetic Toxicology**

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ  
SACCHAROMYCES CEREVISIAE, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В АЛЬФА-ТЕСТЕ  
ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ШИРОКОГО СПЕКТРА ПЕРВИЧНЫХ  
ПОВРЕЖДЕНИЙ И НАСЛЕДУЕМЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО  
МАТЕРИАЛА**

Афанасова Д.В.<sup>1</sup>, Жук А.С.<sup>1,2</sup>, Степченкова Е.И.<sup>1,2</sup>, Инге-Вечтомов С.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9; <sup>2</sup> Санкт-Петербургский филиал института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9  
[dari.afanasova@gmail.com](mailto:dari.afanasova@gmail.com)

Актуальной проблемой современной генетической токсикологии является создание новых и совершенствование существующих тестов для своевременного обнаружения и определения уровня активности различных факторов, способных повреждать генетический материал живых организмов и индуцировать мутации и канцерогенез. Главными критериями, определяющими эффективность тест-систем, являются высокая пропускная способность, высокая чувствительность к генотоксическим агентам и возможность комплексного определения разных типов генетических нарушений. Среди многообразия тест-систем выделяется альфа-тест, разработанный на кафедре генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета. Его особенность заключается в способности выявлять и идентифицировать широкий спектр наследуемых изменений генетического материала, в том числе, генные мутации, конверсию, рекомбинацию, потерю правого плеча и целой III хромосомы, а также первичные повреждения генетического материала еще до их исправления или закрепления в виде мутаций системами репарации ДНК. Все эти события могут быть выявлены в альфа-тесте по изменению частоты образования “незаконных” гибридов гетероталлических штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* одинакового типа спаривания. Ранее в ходе исследований, связанных с использованием альфа-теста, были намечены направления для дальнейшей модификации тест-системы, нацеленные на повышение ее разрешающей способности, эффективности выявления редких генетических событий и уменьшение сроков и трудоемкости процесса тестирования. В рамках данной работы базовые штаммы дрожжей, используемые в альфа-тесте были модифицированы с использованием методов частной генетики дрожжей и методов молекулярной биологии, после чего они были проверены на чувствительность к эталонным мутагенам. Проведенные тесты с исходными и полученными нами штаммами позволили сделать выводы об увеличении чувствительности метода на порядок. Полученные в нашей работе результаты имеют как фундаментальное значение для изучения механизмов мутационного процесса, так и прикладное значение для практических целей генетической токсикологии.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Ресурсных центров СПбГУ «Биобанк» и «РМиКТ».

## МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ МАРКЕРЫ ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *BOEREMIA EXIGUA*

Бемова В.Д.<sup>1</sup>, Сокорнова С.В.<sup>1,2</sup>, Гасич Е.Л.<sup>2</sup>, Матвеева Т.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. д.7-9.; <sup>2</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», Россия, Санкт-Петербург, г. Пушкин, ш. Подбельского, д. 3.

[viktoria.bemova@yandex.ru](mailto:viktoria.bemova@yandex.ru)

Фомоидные грибы группа анаморфных аскомицетов, встречающихся по всему миру. Большинство фомоидных видов являются патогенами растений, но некоторые встречаются на животных и человеке. В 2015 году номенклатура фомоидных грибов была пересмотрена с использованием молекулярных маркеров. Многие виды были отнесены к другим родам, а сама группа оказалась полифилетической. [1].

Известный представитель фомоидных грибов - *Boeremia exigua* имеет широкий круг хозяев и, по некоторым источникам, паразитирует на растениях 46 семейств. Это один из немногих фитопатогенов, заражающих природно-трансгенные растения из родов *Nicotiana*, *Linaria* и *Iropea* [2]. Штаммы *B. exigua* различаются по патогенности в отношении льнянок. Интересно, являются ли наиболее агрессивные в отношении природно-трансгенных растений изоляты более филогенетически близкими. Для исследования филогенетических связей в пределах вида принято использовать молекулярные ДНК-маркеры, в частности SSR-маркеры [3], чему и посвящена данная работа.

В работе использованы штаммы *B.exigua* из коллекций ФГБНУ ВИЗР, хранящиеся при 5°C на скошенном картофельно-глюкозном агаре: 17.39, 17.82, 17.87, 32.11, 32.13, 32.25, 32.36, 32.78, 32.118, 32.226, 263 Ph6, 263 Ph6 2.

Праймеры для микросателлитного маркирования подбирали на основе данных геномного секвенирования *Phoma herbarum*, т.к. он является филогенетически близким видом по отношению к *B. exigua* и у него отсекуен геном. У *P. herbarum* нами был осуществлен поиск микросателлитных повторов, праймеры к фланкирующим их последовательностям подбирали с использованием алгоритма Primer-BLAST и применяли для амплификации фрагментов ДНК штаммов *B.exigua* и *P. herbarum*.

Микросателлитные маркеры, разработанные на основе геномного секвенирования *P. herbarum* были использованы для паспортизации изолятов *B. exigua*. Маркеры 053, 072, 143, 082 и 003 оказались полиморфными. У маркеров 141, 021 и 151 полиморфизм - не обнаружен. Полиморфные маркеры дают возможность различить исследуемые нами генотипы. Т. о., мы получили молекулярные паспорта изолятов, выделенных с растений семейств *Plantaginaceae*, *Scrophulariaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae*. На основе наших данных мы построили филогенетическое древо. Анализ результатов фрагментного анализа подтверждает, что филогенетическая близость форм *B. exigua* не зависит от того, с каких растений они были собраны.

**Благодарности:** Работа была выполнена при поддержке РФФИ, грант 18-016-00118.

Список литературы

[1] Chen Q., Jiang J.R., Zhang G.Z., et al. Resolving the *Phoma* enigma // 2015, Stud. Micol., V.82, P.137-217.

[2] Сокорнова С.В., Гасич Е.Л., Бемова В.Д., Матвеева Т.В., Поиск и видовая идентификация патогенов природно-трансгенного вида *Linaria vulgaris*. // Экологическая генетика. 2018. Т. 16. № 1. С. 27-34.

[3] Матвеева Т.В., Павлова О.А., Богомаз Д.И., Демкович Л.А., Лутова А.Е., Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений. // Экологическая генетика. 2011. Т. 9. № 1. С. 32-43.

## ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГАЛОГЕНИРОВАННЫХ ФУРАНОНОВ.

Глазкова Р.М. , Костенко В.В.

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Россия, Казань, Кремлевская 18.*

*[frau.gimadeeva@mail.ru](mailto:frau.gimadeeva@mail.ru)*

Грамотрицательные бактерии используют AHL-зависимые отношения для взаимодействия с эукариотами и растениями. Морские водоросли выработали способность синтезировать галогенированные фураноны, как антагонисты AHL, в ответ на негативное воздействие бактериальной колонизации. Однако, некоторые галогенированные фураноны являются токсичными. В данной работе мы исследовали токсичность галогенированных производных фуранонов F1, F2, F3, F4, F5, F7, F8 и F15, синтезированных в институте органической химии Казанского федерального университета. В качестве модельного объекта для исследования использовали неселективную линию *D. melanogaster* дикого типа Oregon-R из коллекции кафедры генетики Казанского федерального университета.

Фураноны добавляли в дрожжевую эмульсию в концентрациях 12.5, 20, 50 и 100 мкг/мл. Плодовитость линии определяли как среднее количество особей, доживших до стадии куколки (по числу пупариев) в потомстве одной родительской пары. Жизнеспособность линий определяли аналогично, но учитывали общее количество имаго на одну родительскую пару. Смертность на стадии куколки оценивали по количеству (в процентах от общего количества пупариев) невышедших (погибших) на момент завершения периода выхода имаго из пупариев в потомстве одной родительских пар.

Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики, используя программу Statistica 10. Мы установили, что все тестируемые соединения обладали токсичными свойствами. Наибольшая токсичность была выявлена у фуранонов F1, F5, F8 и F15, а наименьшей токсичностью обладали фураноны F3 и F7.

Анализируя результаты, можно сделать вывод, что разная концентрация оказывает примерно одинаковое угнетающее действие на плодовитость и жизнеспособность особей, кроме фуранона F7. При наименьшей концентрации 12,5 угнетающее влияние было намного меньше, чем при концентрациях 20, 50 и 100.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ТЕСТИРОВАНИЯ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Денисова Е.Р., Байер М.А., Куприянова Е.В.

Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, ул. Ленинские горы  
1/12

[evgeniya.denisova.1998@mail.ru](mailto:evgeniya.denisova.1998@mail.ru)

Проблема загрязнения окружающей среды со временем встаёт всё острее. Большинство отраслей промышленности сопряжены с образованием отходов, которые захораниваются на специально отведенных полигонах. Это приводит к загрязнению прилегающих территорий, а если при создании подобных свалок допущены технические ошибки, попадание в окружающую среду токсичных веществ приобретает катастрофический характер и представляет угрозу здоровью людей. Для оценки угрозы населению вблизи полигонов необходим мониторинг генотоксичности среды, в котором могут использоваться разнообразные тест-системы на основе бактерий, растений, животных, клеток человека и пр. Общие черты тест-систем – простота воспроизведения и высокая пропускная способность. Самые новые тест-системы базируются на использовании трансгенных микроорганизмов, содержащих ген люциферазы под контролем промоторов генов, активирующихся в присутствии генотоксичных соединений. Эти гены кодируют ферменты антиоксидантных систем, контролируют клеточные деления и репарацию ДНК. Прокариотические тестеры позволяют минимизировать время мониторинга, однако их использование в оценке потенциальной генотоксичности для эукариотических организмов вызывает вопросы. Задачей нашей работы является разработка новой тест-системы, основанной на использовании трансгенных растений *Arabidopsis thaliana*, содержащих в геноме репортерный ген *GUS* под промотором гена циклина *CycB1;1*. Ген *CycB1;1* является компонентом системы репарации ДНК в растениях и индуцируется транскрипционным белком SOG1 после его активации чекпоинт-протеинкиназой ATM. Взаимодействие *CycB1;1* с CDKB1 активирует белок RAD51, необходимый для репарации по типу гомологичной рекомбинации [1]. Анализ экспрессии трансгена *CycB1;1::GUS* служит показателем активации репарации повреждений ДНК, возникающих под действием генотоксикантов. Исследования экспрессии *CycB1;1::GUS* проводятся на проростках (молодые листья, корни), каллусах и цветущих трансгенных растениях с параллельной оценкой генетических эффектов ксенобиотиков с помощью эмбрион-теста и анализа пыльцы. Поскольку токсичные соединения приводят к остановке клеточной пролиферации, на каллусных культурах осуществляется и анализ маркера пролиферативной активности – трансгена *KN1::GUS*. Наши исследования могут послужить основой для создания новых эффективных тестеров генотоксичности на основе трансгенных растений. Скорость мониторинга в дальнейшем может быть повышена за счет замены репортера *GUS* на *GFP*.

[1]. Weimer A.K., Biedermann S., Harashima H., Roodbarkelari F., Takahashi N., Foreman J., Guan Y., Pochon G., Heese M., Van Damme D., et al., The plant-specific CDKB1-CYCB1 complex mediates homologous recombination repair in *Arabidopsis*. // 2016, EMBO J., V. 35(19), P. 2068-2086.

## ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА КАДМИЯ НА УРОВЕНЬ ПОЛНОГЕНОМНОГО МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК И СТЕПЕНЬ КОМПАКТИЗАЦИИ ХРОМАТИНА В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Дергачева Н.И., Сучкова И.О., Сасина Л.К., Баранова Т.В., Нониашвили Е.М., Софронов Г.А., Паткин Е.Л.

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. улица Академика Павлова, 12  
[natalia-9999@mail.ru](mailto:natalia-9999@mail.ru)

Исследования взаимосвязи между возникновением заболеваний и загрязнением окружающей среды тяжелыми металлами проводились на протяжении многих десятилетий и являются актуальными до сих пор. Кадмий присутствует практически во всех пищевых продуктах, питьевой воде, воздухе, особенно в сигаретном дыме, он способен аккумулироваться в организме и может вызывать рак. Кроме того он является фактором риска развития заболеваний сердечно-сосудистой, иммунной, нервной и репродуктивных систем. Многие исследования показали, что воздействие соединений кадмия приводит не только к генетическим нарушениям, но и вызывает эпигеномные изменения. Однако до сих пор многие вопросы в этой области остаются открытыми.

В связи с этим в данной работе проведен сравнительный анализ влияния разных доз хлорида кадмия (0,5 мкМ, 1 мкМ, 2 мкМ, 5 мкМ, 10 мкМ) на степень полногеномной компактизации хроматина и уровень полногеномного метилирования ДНК в культурах клеток человека (HepG2, IMR-32, FetMSC). Геномную ДНК выделяли стандартным хлороформным методом. Суспензию ядер получали с помощью гипотонической обработки 0,5% KCl. Количественную оценку полногеномного метилирования ДНК по CCGG сайтам проводили с помощью метилчувствительной рестрикции. Относительную степень полногеномной компактизации хроматина определяли с помощью обработки эукариотических ядер ДНКазой I. Денситометрирование шлейфов фрагментированной ДНК на электрофореграммах проводили в ImageJ.

Обнаружено, что воздействие хлорида кадмия в течение 72 часов приводит к эпигеномным изменениям, которые зависят не только от дозы токсиканта, но и от типа клеточной линии.

Было выявлено 4 типа эпигеномной реакции клеток: 1 – одновременное повышение (либо снижение) уровня метилирования ДНК и компактизации хроматина; 2 – повышение уровня метилирования ДНК при снижении степени компактизации хроматина (или наоборот); 3 – изменение только степень компактизации хроматина; 4 – только повышение уровня метилирования ДНК. Влияние хлорида кадмия на эпигеном клеток HepG2, IMR32 и FetMSC характеризуется немонотонной, нелинейной зависимостью «доза-эффект». Использованными в данной работе методами не обнаружено ожидаемой прямой зависимости между относительным уровнем полногеномного метилированием ДНК по CCGG сайтам и степенью компактизации хроматина.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-015-00122а

## РОЛЬ ГЕНОВ ИНСУЛИНОВОГО СИГНАЛЬНОГО КАСКАДА *DILP6* И *DFOXO* В РЕГУЛЯЦИИ УГЛЕВОДНОГО И ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА *DROSOPHILA MELANOGASTER* В УСЛОВИЯХ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА

Еремина М.А., Карпова Е.К., Грунтенко Н.Е.

ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-т акад. Лавреньева, 10  
[eremina@bionet.nsc.ru](mailto:eremina@bionet.nsc.ru)

За последнее десятилетие получены многочисленные доказательства сходства метаболических путей, регулирующих углеводный и липидный обмен у *Drosophila melanogaster* и позвоночных животных, включая определение эволюционно консервативных компонентов и аналогичных органов. Сигнальный каскад инсулина/инсулиноподобных факторов роста (И/ИФР) участвует в регуляции различных функций, включая рост, развитие, метаболический гомеостаз, продолжительность жизни и устойчивость к различным видам стресса. Показано, что дефекты И/ИФР приводят к возникновению фенотипов, подобных диабетическим состояниям млекопитающих. В свою очередь, изучение влияния мутаций, вызывающих изменения в уровнях углеводов и липидов под действием стрессирующих факторов позволяет анализировать механизмы взаимодействия генетических и экологических детерминант, которые до сих пор остаются до конца не изученными. В работе были использованы половозрелые самки *D. melanogaster* линии дикого типа Canton S, используемой в качестве контроля, и двух линий с гипоморфными мутациями генов сигнального каскада И/ИФР: *dilp6*<sup>41</sup> с делецией 3'-области гена *phl* и 5'-области гена *dilp6*, захватывающей первый экзон, и *foxo*<sup>BG01018</sup>, несущая транспозон элемента P [GT1] в 5'-области гена *dfoxo*. Было установлено, что: 1) в нормальных условиях гипоморфные мутации генов *dilp6* и *dfoxo* приводят к повышению уровня углеводов (трегалозы и глюкозы) по сравнению с контрольной линией Canton S; 2) в нормальных условиях мутация *dilp6*<sup>41</sup> приводит к повышению концентрации общих липидов, мутация *foxo*<sup>BG01018</sup>, не дает различий по сравнению с Canton S; 3) уровень углеводов и общих липидов возрастает при тепловом стрессе (38°C, 30 мин) как у Canton S, так и у мутантов *dilp6*<sup>41</sup> и *foxo*<sup>BG01018</sup>. Таким образом, снижение экспрессии генов *dilp6* и *dfoxo* не препятствует развитию ответа систем углеводного и липидного обмена на тепловой стресс. Однако, стресс-ответ у мух с мутациями И/ИФР ниже по сравнению с контрольной линией Canton S, как уровня трегалозы, так и уровня общих липидов. Возможно предположить, что мутация *foxo*<sup>BG01018</sup> оказывает на липидный обмен меньшее влияние, чем на углеводный обмен.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-04-00458.

## SUSTAINABLE DEVELOPMENT OF CASPIAN SEA ECOSYSTEM'S, SOCIETY AND HUMAN BEING

Kozhahmetova A.N.<sup>1</sup>, Bigalyev A.B.<sup>1</sup>, Shalabaeva K.Z.<sup>2</sup>, Adilova L.M.<sup>2</sup>, Kulimbetov A.K.<sup>2</sup>, Shymshikov B.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Al-Faraby Kazakh National University, Republic of Kazakhstan, Almaty, 71 al-Faraby ave.,

<sup>2</sup> S.Asphendiyarov Kazakh National Medical University, Republic of Kazakhstan, Almaty, Toleby str.94

Taking into account the special ecological danger of this region, but for prediction of mutagenic and carcinogenic danger of environmental factors for the people living on these territories. Caspian Sea transgression and regression influence on huge coastal landscapes. The objects of research were selected goby fish (*Neogobius gorlap*) and polychaetes (*Nereis diversicolor*) caught in the coastal zone of the Caspian sea. Three points were selected for the analysis by polymerase chain reaction of fish and polychaete DNA spectra: Atyrau, of the river Ural delta and the coastal zone of the Caspian sea with different levels of pollution. Quantitative and qualitative assessment of the isolated DNA was performed using spectrophotometric and electrophoretic analysis. Then the variability of randomly amplified DNA was analyzed by RAPD-PCR method with selected standard 10-nucleotide primers. During the analysis of the DNA spectra of fish obtained by polymerase chain reaction, caught in the vicinity with different levels of pollution, both polymorphic and monomorphic DNA were found. According to the literature, such monomorphic DNA should be distinguished from polymorphic and considered as a manifestation of genetic monomorphism at the DNA level. The features of the DNA spectra of the studied fish and polychaetes in two areas with different levels of pollution of the environment (biotopes) were revealed. A unique DNA fragment was found in individuals living in a more polluted environment. The next stage of the study was the analysis of polychaetes caught in the same biotopes as fish. The same primers OPA-02, OPA-09, OPA-10 and OPA-11 were used. The studies have shown that the DNA spectrum of polychaetes contains from 6 to 9 randomly amplified DNA fragments length from 100 to 1200 nucleotide pairs. During the analysis of the DNA spectra of fish obtained by polymerase chain reaction, caught from different degrees of contamination of biotopes, polymorphic DNA was found. Monomorphic DNA was also revealed in the studied fish samples. DNA spectrum of polychaetes contains from 6 to 9 randomly amplified DNA fragments with length from 100 to 1200 nucleotide pairs. Fragment 12 the sample contains more than 1000 BP is the most striking manifestation of polymorphism. A DNA fragment 300 BP long was detected, which was found in all polychaetes (100% frequency of occurrence). This fragment can be considered as a manifestation of genetic monomorphism at the DNA level. Later it can also be used as a molecular marker for specific species under study.

## ПЕРСПЕКТИВЫ МЕТОДА ДНК-КОМЕТ В ОЦЕНКЕ БЕЗОПАСНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Курчатова М. Н., Дурнова Н. А.

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава РФ, Россия, Саратов, ул. Большая Казачья 112

[kurchatova.marya@yandex.ru](mailto:kurchatova.marya@yandex.ru)

Метод ДНК-комет впервые описан в 1984 году и с тех пор подвергался разнообразным усовершенствованиям и модификациям. В настоящее время существуют достаточно широкие обзоры, посвященные анализу применения метода в различных областях медицинской науки, в том числе, в клинических исследованиях предрасположенности к онкологическим заболеваниям, в пренатальной диагностике и т.д. Необходимо отметить важность метода в программах биомониторинга – оценке влияния на организм факторов внешней среды. Таким образом, метод может быть применен для анализа действия на организм человека различных групп химических соединений. Это делает метод ДНК-комет привлекательным для использования не только при изучении канцерогенных и мутагенных веществ, но и для анализа действия соединений растительного происхождения, применяющихся в официальной и традиционной медицине.

Цель: сравнить преимущества и недостатки теста ДНК-комет по сравнению с другими общепризнанными методами оценки мутагенности веществ.

Метод ДНК-комет обладает рядом преимуществ в сравнении с другими методами диагностики повреждений наследственного аппарата. Во-первых, метод ДНК-комет позволяет регистрировать повреждения ДНК в любых органах и тканях, в независимости от митотической активности их клеток. Это позволяет использовать метод ДНК-комет в тех условиях эксперимента, где невозможно или представляет определенную трудность применение анализа метафазных хромосом.

Во-вторых, сравнение результатов теста ДНК-комет с результатами, полученными общепринятым тестом Эймса, в ряде случаев не коррелируют между собой. Например, изучение канцерогенного действия веществ, которые показали отрицательный результат по тесту Эймса, методом ДНК-комет подтвердило их генотоксичность.

В-третьих, некоторые исследования показали более высокую чувствительность теста по сравнению с другим стандартным методом исследования, таким как микроядерный тест. Так, из 54 канцерогенных веществ, не вызывающих увеличение числа микроядер, с помощью ДНК-комет выявлен повреждающий эффект для 49 их них.

Однако значительная часть повреждений ДНК, выявляемых методом ДНК-комет, впоследствии может быть устранена системами репарации ДНК и отсутствовать в геноме.

Вывод. Высокая чувствительность метода ДНК-комет, дает возможность его использовать при анализе генотоксического действия соединений различной природы, включая растительные вещества, но для адекватной оценки повреждений необходимо использовать набор тестов как *in vivo*, так и *in vitro*.

## ИЗУЧЕНИЕ Р-ГЛИКОПРОТЕИНА БАЙКАЛЬСКИХ ЭНДЕМИЧНЫХ АМФИПОД В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ S2 ДРОЗОФИЛЫ

Лубяга Ю.А.<sup>1,4</sup>, Яринич Л.А.<sup>2</sup>, Дроздова П.Б.<sup>1</sup>, Т. Люкенбах<sup>3</sup>, Тимофеев М.А.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Россия, Иркутск, ул. Ленина, 3

<sup>2</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Россия, Новосибирск, просп. акад. Лаврентьева, 8/2

<sup>3</sup>Центр экологических исследований им. Гельмгольца, Германия, Лейпциг, Пермозеритрассе, 15

<sup>4</sup>Байкальский исследовательский центр, Россия, г. Иркутск, ул. Ленина, 21

[yuliya.a.lubyaga@gmail.com](mailto:yuliya.a.lubyaga@gmail.com)

В условиях возрастающей антропогенной нагрузки на водные экосистемы актуальными становятся исследования, направленные на изучение влияния токсического воздействия на функционирование различных защитных систем у водных организмов. Ключевым защитным механизмом у всех изученных представителей живого мира является механизм множественной резистентности к ксенобиотикам (MXR – multixenobiotic resistance). Данный механизм обеспечивает способность различных организмов противостоять токсическому воздействию широкого спектра веществ на клеточном уровне. Одним из важнейших компонентов данного механизма являются белки семейства ABC-транспортёров. Наиболее изученным представителем семейства ABC-транспортёров является Р-гликопротеин (Р-gp) млекопитающих, но высококонсервативные Р-gp обнаружены у самых разных гидробионтов. Для древних экосистем, таких как оз. Байкал, исследование MXR особо актуально, т.к. эволюция их биоты длительное время проходила в стабильных условиях, которые могли сформировать особые механизмы стресс-резистентности. Целью данной работы являлось получение Р-gp байкальских эндемичных амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstf.) в стабильной клеточной линии S2 *Drosophila melanogaster*.

Для получения стабильной клеточной линии была сконструирована плазмидная конструкция, кодирующая ген Р-gp *E. verrucosus*, слитый с последовательностью гена красного флуоресцентного белка *mScarlet*, под контролем конститутивного промотора гена *actin5c* *Drosophila melanogaster*. Кроме того, была сконструирована идентичная контрольная плазмидная конструкция без гена Р-gp амфипод. Для проверки работоспособности исследуемого белка и его локализации использовали метод прижизненной конфокальной микроскопии и иммуноокрашивания. Полученные препараты подтвердили наличие и работоспособность белка. Так, при окрашивании красителем Hoechst 33342 ядер живых клеток стабильной линии, экспрессирующей белок Р-gp-mScarlet, отмечали выведение красителя, который является субстратом для исследуемого Р-gp, тогда как в фиксированных в формальдегиде клетках данной линии и в живых клетках контрольной линии, экспрессирующей только красный флуоресцентный белок *mScarlet*, выведение красителя не наблюдалось. Окрашивание фиксированных клеток антителами, специфичными к Р-гликопротеину, и к ламину, компоненту ядерной оболочки, подтверждают мембранную локализацию трансгенного Р-gp. Полученные стабильные клеточные линии будут использованы для дальнейшей работы по выявлению особенностей функционирования механизма MXR у байкальских эндемичных видов, а также для более полного понимания того, как факторы окружающей среды и длительная изоляция могут воздействовать на формирование защитных систем у гидробионтов в целом.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФ (17-14-01063), РФФИ (18-34-00294-мол\_а, 17-44-388067-р\_а), Грант Президента (МК-6804.2018.4), а также Фонда поддержки прикладных экологических разработок и исследований «Озеро Байкал».

## ОСОБЕННОСТИ ИНВЕРСИОННОГО ПОЛИМОРФИЗМА И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ФИТОФИЛЬНОГО *ENDOCHIRONOMUS TENDENS* (FABRICIUS, 1775)(DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

Оглезнева А.А., Дурнова Н.А.

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Россия, Саратов, ул. Большая Казачья, 112.

[cucurbita25@gmail.com](mailto:cucurbita25@gmail.com)

Благодаря наличию крупных политенных хромосом с четкой дисковой структурой и высокому уровню инверсионного полиморфизма *E. tendens* ( $2n=6$ ; хромосома I – плечи EF, II – CDG, III – AB.) может служить хорошей моделью для изучения влияния факторов среды на внутривидовую цитогенетическую дифференциацию.

Личинки *Endochironomus tendens* являются специализированными минерами живых и отмирающих тканей прибрежно-водных растений. Проведен сравнительный статистический анализ выборок личинок, обитающих, во-первых, в одинаковых субстратах, но в разных водоемах Волжского (р. Терешка и р. Волга) и Донского (р. Медведица и р. Хопер) бассейнов; во-вторых, выборок личинок, собранных из разных субстратов (ежеголовник обыкновенный; сусак зонтичный; стрелолист обыкновенный; рогоз обыкновенный), но в одном водоеме.

Хирономиды, обитающие в одинаковом субстрате, но в разных водоемах одного бассейна, различались между собой по частоте инверсионных последовательностей в плечах: E, DG и V. Например, для особей из ежеголовника расстояние Махаланобиса (р.М.) между выборками из рек Донского бассейна составило 0,25-0,67. Между выборками из водоемов, принадлежащих разным бассейнам, р.М. были значительно больше, так, между выборками из ежеголовника в р. Хопер и р. Волга – 3,32; между выборками из рогоза в р. Волга и в р. Медведица – 2,27. Обнаруженные отличия достоверны ( $p \leq 0,0005$ ).

При изучении хромосомной дифференциации между личинками, собранными из разных субстратов, но в одном водоеме (например, в р. Медведица), установлено, что отличия определялись по частотам встречаемости инверсий в плечах E, DG и A. Максимальные р.М наблюдались между выборками личинок, собранных из ежеголовника и сусака (2,63), а также между особями из ежеголовника и стрелолиста – 2,36. Между выборками личинок из рогоза и стрелолиста р.М. составило 1,79; выборки отличались только по частоте DG2.2. Минимальные различия наблюдались между выборками личинок из рогоза и ежеголовника (0,79) и определялись разной частотой E1.1 и E2.2. Обнаруженные отличия достоверны ( $p \leq 0,0005$ ).

В целом корреляция между частотами сочетаний хромосомных последовательностей и заселением личинками определенных субстратов в одном водоеме выражены незначительно, наибольшие различия наблюдались между выборками хирономид, собранных из разных водоемов.

## БИОДОСТУПНЫЕ ИСТОЧНИКИ АЗОТА КАК ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР, РЕГУЛИРУЮЩИЙ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ТРАНСПОРТЕРОВ АЗОТА *DUR3* И *NRT2.1* У ДИНОФЛАГЕЛЛЯТ *PROROCENTRUM MINIMUM*

Печковская С.А., Матанцева О.В, Филатова Н.А.

Институт Цитологии РАН, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект 4.

[sapechkovskaya@gmail.com](mailto:sapechkovskaya@gmail.com)

Динофлагелляты – важная группа одноклеточных свободноживущих протистов, способных формировать обширные вредоносные цветения, наносящие ущерб морским экосистемам и экономике прибрежных зон. В данной работе был исследован потенциально токсичный вид динофлагеллят *Prorocentrum minimum* (Pavillard) Schiller, вселившийся в Балтийское море более трех десятилетий назад и периодически формирующий вредоносные цветения. Считается, что эти протисты получают конкурентное преимущество в условиях эвтрофикации за счет способности эффективно усваивать азот органического и неорганического происхождения. Однако до сих пор механизмы регуляции азотного метаболизма динофлагеллят изучены недостаточно. Нами было исследовано влияние разных источников азота на экспрессию генов-транспортеров *dur3* и *nrt2.1*. Транскрипты интересующих нас генов были идентифицированы в неаннотированной транскриптомной базе MMETSP. Поскольку сайты сплайсинга у динофлагеллят предположительно маркируются последовательностью AGG, при конструировании праймеров мы учитывали расположение этих последовательностей и возможную экзон-интронную структуру генов динофлагеллят. В связи с этим мы предложили два варианта расположения праймеров относительно предположительных сайтов сплайсинга. Для амплификации коротких фрагментов размером до 200 bp было сконструировано шесть пар праймеров для гена *dur3* и три пары для гена *nrt2.1*. Последующая амплификация и секвенирование продуктов ПЦР показали, что полученные фрагменты генов идентичны последовательностям, представленным в транскриптоме. Анализ методом РТ-ПЦР выявил отличия в экспрессии генов транспортеров *dur3* и *nrt2.1* в ответ на доступные источники азота (нитрат, аммоний, мочевины и смесь мочевины и аммония). При добавлении в среду аммония уровни экспрессии генов *nrt2.1* и *dur3* уменьшались в 2.0 и 2.7 раз соответственно по сравнению с контролем. Добавление мочевины или смеси мочевины и аммония приводило к уменьшению уровня экспрессии гена *dur3* в 1.6 и 1.9 раз соответственно, но не оказывало значительного влияния на экспрессию гена *nrt2.1*. Полученные результаты, по-видимому, свидетельствуют о том, что динофлагелляты способны выбирать наиболее эффективную стратегию ассимиляции поступающих азотсодержащих питательных веществ, что, возможно, и обеспечивает их успешное распространение и способность формировать обширные цветения в прибрежных водах.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ, проект 18-74-10093.

## ПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ЭКСТРАКТА *Prunella grandiflora* L. ОТНОСИТЕЛЬНО ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭТОПОЗИДА НА *Drosophila melanogaster*

Постовалова А.С.<sup>1</sup>, Антосюк О.Н.<sup>1</sup>, Болотник Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина, Россия, Екатеринбург, ул.Мира, 19; <sup>2</sup>Ботанический сад УрО РАН  
[tiger.ru12@mail.ru](mailto:tiger.ru12@mail.ru)

Большинство используемых человеком лекарственных препаратов обладают выраженным побочным действием. В ряде случаев, такой дополнительный эффект приходится принимать в силу необходимости применения препарата ради его основного воздействия. К вышеописанным лекарствам относятся цитостатики, которые на фоне основного действия интенсификации клеточной гибели демонстрируют дополнительно общее токсическое воздействие. Актуальным направлением исследования является поиск протекторов, которые будут не просто защищать от токсического воздействия, но и минимально влиять на основной эффект препарата. Таким образом, к элиминированию необходим только побочный эффект при неизменности цитостатического. В качестве протекторов тестируется множество различных веществ, среди которых немалочисленную группу составляют различного рода экстракты лекарственных растений. Применимо к модельному объекту, используемому в работе, а именно *Drosophila melanogaster*, анализируются различные показатели: жизнеспособность, изменение продолжительности жизни, поведенческий аспект и другие [1]. В качестве протектора тестировали экстракт *Prunella grandiflora* L. 1% в отношении воздействия цитостатиком этопозидом в концентрации 800 мкг/кг питательной среды. Для оценки эффекта препарата использовали: определение летальности (ЛД), оценку частоты мутаций и рекомбинаций (SMART) и анализ жизнеспособности по показателям средней индивидуальной плодовитости (СИП) и эмбриональной летальности потомства F<sub>1</sub> на ранней и поздней стадии развития (РЭЛ, ПЭЛ). Определение летальности производили с использованием линии Oregon-R. Летальность особей, получавших экстракт - 47%, экстракт и этопозид - 28%, этопозид - 43.61%, тогда как в контрольной группе - 48%. Анализ генетической активности производили с использованием SMART линий: yellow, white singed 3. Получены предварительные результаты по отсутствию генотоксического эффекта экстракта самого по себе (хи-квадрат с поправкой Йейтса 0.253). В отношении уровня плодовитости зарегистрировали статистически значимое увеличение в группах экстракт и экстракт+этопозид, где СИП составила 16.42 и 16.58 соответственно, тогда как в группе, получавшей этопозид - 9.03, а в контроле - 6.83. При этом в отношении летальности потомства F<sub>1</sub> эффект экстракта не наблюдали. Таким образом, нами зафиксированы протекторные свойства 1% экстракта *P. grandiflora* L. в отношении побочного действия этопозид.

[1]. Liu Z., Chen Y., Zhang H., Jin L.N., Crocus salivus L. protects against SDS - induced intestinal damage and extends lifespan in *Drosophila melanogaster*. // 2016, Mol. Med. Rep., P.5601-5606.

## СОДЕРЖАНИЕ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В АНТРОПОГЕННО ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВАХ

Хмелевцова Л.Е.<sup>1</sup>, Сазыкин И.С.<sup>1</sup>, Сазыкина М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Россия, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1;  
[lehmelevcova@sfedu.ru](mailto:lehmelevcova@sfedu.ru)

При всех преимуществах применения антибиотиков в медицине и сельском хозяйстве, обратной стороной является возникновение устойчивых бактериальных штаммов. Гены антибиотикорезистентности редко появляются de-novo. Чаще всего происходит горизонтальный перенос уже имеющихся генов между различными штаммами микроорганизмов. Резервуаром, в котором способны накапливаться и передаваться гены антибиотикостойчивости, могут служить антропогенно загрязненные почвы.

Исследованы образцы почв пяти полигонов ТБО различного возраста, находящиеся в Ростовской области; почвы с территории пересохшего озера Атаманское, в которое более 30 лет поступали отходы химической промышленности, а также почвы с окраин двух сельских населенных пунктов.

Наличие генов антибиотикорезистентности в препаратах тотальной ДНК, выделенной из почв, изучали методом ПЦР с последующей электрофоретической детекцией (наборы производства НПФ «Литех», Россия).

Показано наличие генов резистентности в почвах двух полигонов ТБО. Обнаружены гены устойчивости к гликопептидам (*vanA* и *vanB*) и тетрацикламам (*TetM/TetO*). Данные гены одновременно были выявлены на действующем полигоне ТБО, тогда как на недавно закрытом полигоне детектированы только гены *vanA*. При этом спектр выявленных здесь генов резистентности более характерен для сточных вод, нежели почв. Не было выявлено генов устойчивости к карбапенемам (*VIM*, *NDM*, *OXA-48*), цефалоспорином (*CTX-M*, *MecA*), эритромицину (*ErmB*). В техногенно загрязненных почвах (оз. Атаманское) выявлены гены *VIM*, *NDM*, *CTX-M*, *VanA*, *VanB* и *TetM/TetO*, при этом гены *OXA-48*, *MecA* и *ErmB* не обнаружены. В почвах с окраин сельских населенных пунктов выявлены только гены *NDM* и *CTX-M*.

Таким образом, наибольшее разнообразие генов антибиотикорезистентности обнаружено в техногенно загрязненных почвах. Учитывая, что эти почвы не подвергаются загрязнению муниципальными отходами, несущими детерминанты резистентности, можно предположить, что механизм накопления и распространения генов резистентности может быть связан с содержанием в почве токсикантов (которые часто являются мутагенами). Техногенно загрязненные почвы, наряду с полигонами ТБО, являются «горячими точками» накопления и распространения генов антибиотикорезистентности. Почвы окраин сельских населенных пунктов также не свободны от генов резистентности в связи с антропогенной нагрузкой.

**Благодарности:** Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (грант № 6.2379.2017/ПЧ), РФФИ (проект № 17-04-00787).

## МИКРОБИОМ ПОЧВ ПРИРОДНЫХ И АНТРОПОГЕННЫХ ЭКОСИСТЕМ КРАЙНЕГО СЕВЕРА: МЕТАГЕНОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ИНИЦИАЛЬНОГО ПЕДОГЕНЕЗА

Абакумов Е., Першина Е., Иванова Е., Кимеклис А., Гладков Г., Зверев А., Андронов Е.

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, 199178, 16-я линия Васильевского острова, д. 29, [e\\_abakumov@mail.ru](mailto:e_abakumov@mail.ru), [e.abakumov@spbu.ru](mailto:e.abakumov@spbu.ru)

Изучение рецентных стадий почвообразования является актуальной задачей, как с точки зрения эволюции почв, так и в плане разработки методов возобновления почвенных ресурсов (рекультивации). Микробиом является мощнейшим средообразующим фактором в почвенных экосистемах как в количественном, так и в качественном отношении. Ранее доступные методы культивируемых форм почвенных микроорганизмов не позволяли изучить и 5 % существующего биоразнообразия микроорганизмов. Более 9/10 частей микробиома почв оставалось неисследованными. Новые подходы, связанные с почвенной метагеномикой позволили вывести почвенно-микробиологические исследования на качественно новый уровень.

Изучены почвы различных типов карьеров по добыче приповерхностного грунта, используемого для строительных нужд в окрестностях г. Якутск и в Чурапчинском р-не р. Якутия, а также фоновые природные почвы. В составе микробиомов изученных почв доминировали альфапротеобактерии р. *Sphingomonas* и *Bradyrhizobium*, а также сем. *Chitinophagaceae* (Bacteroidetes) и р. *Candidatus Udaeobacter* (Verrucomicrobia). Обилие бактерий группы Bacteroidetes увеличивалось при наличии легкодоступного органического вещества, связано с преимущественно копиотрофным характером данной группы. Экологические особенности бактерий филы Verrucomicrobia на сегодняшний момент еще недостаточно изучены, при этом доминирование данной группы в подповерхностных горизонтах почв позволяет сделать вывод об ослабленной конкуренции веррукомикробий в микробном сообществе и, следовательно, большей склонности данных бактерий к олиготрофному типу питания. Таксономическая структура верхних горизонтов первичных почв отличается относительной выравненностью состава микробиомов с отсутствием явно доминирующих таксонов. В составе микробиома почв, формирующихся на скальных субстратах отмечалось сравнительное увеличение цианобактерий р. *Nostoc*, являющихся первопоселенцами на выветриваемых породах. В микробных сообществах почв с развитым органотрофием отмечено уменьшение разнообразия актинобактерий и увеличение доли бактерий пор. *Rhizobiales* (*Ensifer*, *Rhizobium*), *Pseudomonadales* (*Acinetobacter*) и *Burkholderiales* (сем. *Burkholderiaceae*). Присутствие бактерий, способных к автотрофной и симбиотической азотфиксации, может косвенно указывать на инициацию аккумуляции соединений связанного азота на поверхности отвальных пород.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке РФФ, грант № 17-16-01030

## РОЛЬ ЧАСОВЫХ ГЕНОВ В СТАРЕНИИ И РАЗВИТИИ АССОЦИИРОВАННОЙ С ВОЗРАСТОМ ПАТОЛОГИИ

Анисимов В.Н.

*Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова  
Россия, 197758 Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, 68.*

*aging@mail.ru*

Смена дня и ночи (циркадный ритм) - наиболее важный регулятор множества физиологических ритмов у живых организмов. В настоящее время воздействию светового загрязнения подвергается 62 % всего населения планеты. Такое воздействие может быть связано с проживанием в северных широтах, когда летом имеют место так называемые “белые ночи”, а зимой – долгая полярная ночь, профессией (специалисты и рабочие, работающие в ночные смены), или может быть обусловлено привычкой и стилем жизни.

Установлено, что постоянное освещение подавляет ночной пик секреции гормона эпифиза мелатонина, приводит к нарушению овуляторного цикла и последующему развитию метаболического синдрома, гиперпластических процессов и опухолей в молочной железе, яичниках и матке. Нобелевской премии по медицине или физиологии за 2017 год были удостоены Д. Холл, М. Росбаш и М. Янг «за открытие молекулярных механизмов, контролирующих циркадные ритмы». У позвоночных часовые гены представлены семействами, каждое из которых состоит из нескольких генов-паралогов. К ним относятся *Bmal1*, *Clock*, *Npas2*, *Per1–3*, *Cry1, 2*. Ген *period* кодирует белок PER, который накапливается в клетках ночью и разрушается в течение дня. М. Янг идентифицировал ген *double time*, кодирующий белок DBT, который замедляет накопление белка PER клетки и позволяет организму более точно подстраиваться под 24 часовые сутки. С возрастом нарушается синхронизация ритмов центрального и периферических осцилляторов организма и изменяется амплитуда некоторых ритмов, что связано с изменением экспрессии часовых генов. В эпидемиологических исследованиях установлена связь между работой в ночные смены и опухолями молочной железы, толстой кишки, простаты, эндометрия. В экспериментах на животных установлено, что постоянное освещение и естественное освещение крайнего севера приводят к повышению частоты и множественности опухолей различных локализаций. Нарушение экспрессии часовых генов приводит к потере контроля над пролиферацией. Применение индольного гормона эпифиза мелатонина угнетает как спонтанный, так и индуцируемый различными химическими канцерогенами канцерогенез у животных, содержащихся при стандартном чередующемся (свет/темнота) режиме освещения или в условиях постоянного освещения. Полученные данные позволяют предполагать возможность использования мелатонина в качестве препарата для профилактики развития злокачественных новообразований у людей, имеющих сменный характер работы и подвергающихся воздействию света в ночное время.

### Литература

1. Anisimov V.N., Vinogradova I.A., Panchenko A.V., et. al. //Light-at-night-induced circadian disruption, cancer, and aging // , 2012, Current Aging Science, V. 5. P. 170-177.
2. Panchenko A.V., Gubareva E.A., Anisimov V.N. Circadian system and aging in rodent models. In: Circadian Rhythms and Their Impact on Aging. Health Ageing and Longevity 7. S.M. Jazwinski , V.P. Belancio, S.M. Hill, Eds. Springer International Publishing AG, 2017, pp. 103-128.
3. Gubareva E.A., Panchenko A.V., Anisimov V.N. Cancer and aging: Why bother about light at night? // 2016, J. Gerontol. Geriatr. Res.. V.5, Issue 6, 1000363;

## НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА В НОРМАЛЬНЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА, СВЯЗАННЫЕ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И НЕКОДИРУЮЩИХ РНК

Засухина Г.Д.<sup>1</sup>, Михайлов В.Ф.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Россия. Москва. 117312, Москва, ул.Губкина, 3.

<sup>2</sup>ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И.Бурназяна ФМБА России, Москва 123098, ул.Маршала Новикова, д.23

[Zasukhina@vigg.ru](mailto:Zasukhina@vigg.ru)

Адаптивный ответ (АО) – одна из форм гормезиса, защиты клеток и организмов от повреждающих доз мутагенов после предварительного воздействия малых доз радиации или химических мутагенов. Для АО характерна неспецифичность ответа, т.е. при предварительном облучении малыми дозами радиации (до 0,1Гр) или обработки химическими мутагенами ( $CdCl_2$   $10^{-8}M$ ) клеток человека через определенный интервал времени (4 часа) формируется относительная резистентность к высоким дозам радиации (5Гр и более) или химического мутагена ( $CdCl_2$   $10^{-6}M$ ) по критерию выживаемости, снижению индуцированных хромосомных aberrаций, микроядер, генных мутаций. Нами было показано, что защита клеток от мутагенов при АО и предварительной обработке клеток антимуагенами различна: в некоторых клетках АО не формируется (клетки пациентов с синдромом Дауна), тогда как в этих же клетках, предобработанных антимуагенами (ретинол и др.), более, чем на 50-60 % повышалась клеточная выживаемость (при стрессовых воздействиях). При исследовании АО в лимфоцитах человека и злокачественных клетках Jurkat нами было показано, что АО формируется в лимфоцитах человека при предварительном облучении 0,1 Гр и последующем облучении (5Гр) по показателям выживаемости, тогда как в клетках Jurkat АО не было. Были исследованы профили экспрессии ряда генов, детерминирующих клеточный гомеостаз, пролиферацию и другие клеточные процессы (P53, PTEN, RhoA и др.), некодирующие микроРНК (миР-181a, -27a, -107 и др.) и длинные РНК (GAS5, ROR, MALAT1, NEAT1 и др.). Выявлены различия в уровнях экспрессии в нормальных и злокачественных клетках. Через 1 ч после воздействия на лимфоциты радиации (0,1 Гр) наблюдали увеличение содержания длинных РНК MALAT1 и GAS5 и снижение экспрессии мРНК генов RhoA, Cdc42 и IL-6. В клетках Jurkat после воздействия малой дозы (0,1 Гр) отмечено увеличение экспрессии NFkB(p65) и IL-6 и снижение экспрессии миР-107. В выживших через 20 ч после облучения (5 Гр) клетках Jurkat сохранялась активация NFkB(p65) и IL-6. В лимфоцитах наблюдали статистически значимые различия в содержании мРНК гена P53, NEAT1 и миР-107 между клетками облученными в дозе 5 Гр и дозами 0,1 Гр+5 Гр. Таким образом, АО формировался в нормальных клетках и отсутствовал в злокачественных, при этом показана роль некоторых регуляторных РНК, связанных с радиоответом.

Благодарности: Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-03-00013

## ОЦЕНКА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОГО КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Ильинских Н.Н.<sup>1</sup>, Ильинских Е.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Национальный исследовательский Томский государственный университет, Россия, Томск, 634050 г. Томск, пр. Ленина, д. 36;*

<sup>2</sup> *Сибирский государственный медицинский университет, Россия, Томск, 634050 г. Томск, Московский тракт, д. 2;*

*infconf2009@mail.ru*

Установлено, что многие вирусы, включая вирус клещевого энцефалита (КЭ), вызывают существенное увеличение частоты соматических клеток с цитогенетическими нарушениями, что можно рассматривать как проявление противовирусного иммунного ответа, включающего активацию окислительного стресса, инициируемого провоспалительными цитокинами. Наиболее трудной проблемой диагностики КЭ является раннее распознавание тяжело протекающей очаговой формы (ОФ) этой инфекции, которую в начале заболевания сложно дифференцировать от более легких менингеальной или лихорадочной форм (МФ и ЛФ).

Целью работы было изучение взаимосвязи между цитогенетической нестабильностью, активностью окислительного стресса и показателями цитокинового статуса у больных острым КЭ и выявить на этой основе ранние предикторы очаговой формы этой инфекции.

В исследование было включено 22 пациента с ЛФ КЭ, 26 больных МФ, 20 больных ОФ, а также 22 здоровых лица. У всех групп была проведена оценка частоты бинуклеарных цитокинез-блокированных Т-лимфоцитов периферической крови с микроядрами МЯ в культурах, а также проанализирована частота клеток буккального эпителия (БЭ) с МЯ в цитологических мазках. Кроме того, в сыворотке крови была определена спонтанная продукция малонового диальдегида (МДА), интерферонов-альфа и -гамма (ИФ-альфа, ИФ-гамма), фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-альфа) и интерлейкина (ИЛ)-4.

У больных КЭ выявлена прямая корреляционная зависимость между частотой клеток БЭ с МЯ, лимфоцитов с МЯ и концентрацией МДА и/или ФНО-альфа в сыворотке ( $r=0,59$ ,  $r=0,62$  и  $r=0,68$ ,  $r=0,76$ ,  $P<0,001$ ), что свидетельствовало о тесной взаимосвязи между окислительным стрессом и цитогенетической нестабильностью. Показано, что больные ОФ уже в начальную стадию заболевания имеют наиболее высокие значения показателей частоты клеток БЭ с МЯ, лимфоцитов с МЯ, концентраций МДА и ФНО-альфа в сыворотке, по сравнению с пациентами МФ, ЛФ и контрольной группой ( $P<0,01$ ). Установлено, что «отличное» качество прогноза ОФ КЭ (AUC = 0,90) показали значения следующих показателей: частоты клеток БЭ с МЯ более 6%, частоты лимфоцитов с МЯ более 9%, МДА выше 6,0 мкмоль/л и ФНО-альфа выше 43,0 пг/мл.

Таким образом, впервые показана взаимосвязь между активацией окислительного стресса, продукцией провоспалительных цитокинов и индукцией цитогенетических нарушений у больных КЭ, а также установлена возможность раннего прогнозирования риска развития ОФ у больных КЭ на основе оценки этих показателей.

## СТУДЕНТЫ МЕЖДУ ЭКЗАМЕНАМИ – СТРЕСС И НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА. АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ АНАЛИЗ ПРИЧИН ЭФФЕКТОВ

Ингель Ф.И.<sup>1</sup>, Юрченко В.В.<sup>1</sup>, Кривцова Е.К.<sup>1</sup>, Макарова А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ "Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, Москва 119121, ул. Погодинская 10,

<sup>2</sup>Российский химико-технологический университет им.Д.И.Менделеева. Российская федерация. Москва. Миусская площадь, д.9  
[fainaingel@mail.ru](mailto:fainaingel@mail.ru)

Студенты - одна из самых перспективных для государства групп населения, т.к. их деятельность в ближайшем будущем во многом определит экономическое, социальное и культурное развитие страны. Поэтому состояние здоровья и эмоциональной сферы студентов является важным аспектом будущего. Во многих публикациях описаны генотоксические эффекты экзаменационного стресса, но аналогичные данные о межэкзаменационном периоде в литературе отсутствуют. Студенты химических специальностей могут входить в группу повышенного генетического риска, связанную с дополнительной химической нагрузкой, поэтому целью работы стал сравнительный анализ состояния эмоциональной сферы и уровней генетической нестабильности студентов разных специальностей одного ВУЗа.

Материалы и методы. В работе на условиях выполнения Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964г) анонимно приняли участие студенты 2-4 курсов - юноши и девушки, обучавшиеся на химическом (ХФ, 102 человека) и экономическом (ЭФ, 68 человека) факультетах Российского химико-технологического университета им Д.И.Менделеева, все факультеты которого находятся на общей территории, также, как и общежития этих факультетов. Анализ социо-экономических факторов проводили по результатам анкетирования, психологическое тестирование - с использованием комплекса стандартных опросников-анкет, эффекты нестабильности генома определяли цитомным анализом в микроядерном тесте на эксфолиативных эпителиоцитах щеки, статистическую обработку проводили с использованием Statistica 10.2 Statsoft.

Результаты. Установлено, что степень эмоционального напряжения была выше у студентов ХФ и не зависела от их возраста и курса, на котором они обучались. Кроме того, существенное влияние на эмоциональную сферу и состояние здоровья студентов оказывали отношение к будущей профессии и продолжительность лабораторных занятий (час/неделя). Влияние материального достатка и показателей образа жизни не выявлено. Более высокие частоты клеток с микроядрами и с протрузией ядра обнаружены у юношей на ХФ по сравнению с юношами на ЭФ. Выявлена прямая зависимость частоты клеток с конденсированным хроматином в ядре от продолжительности пребывания студентов (юношей и девушек) в химической лаборатории (час/неделя).

Наличие или отсутствие крупной химической промышленности в родном городе приезжих студентов ассоциировано с состоянием их эмоциональной сферы и уровнями нестабильности генома.

**Благодарности:** работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РНФ 15-17-30016

## ВЛИЯНИЕ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА *IRT1* В КОРНЯХ И ЛИСТЯХ ЯЧМЕНЯ ПРИ ОПТИМАЛЬНОМ И ИЗБЫТОЧНОМ СОДЕРЖАНИИ ЦИНКА В КОРНЕОБИТАЕМОЙ СРЕДЕ

Казнина Н.М., Репкина Н.С., Батова Ю.В., Титов А.Ф.

*Институт биологии - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук", Россия, г. Петрозаводск*

[kaznina@krc.karelia.ru](mailto:kaznina@krc.karelia.ru)

Цинк является одним из необходимых микроэлементов для нормальной жизнедеятельности растений, однако его избыток в корнеобитаемой среде вызывает нарушение физиологических процессов и приводит к снижению продуктивности. Известно, что поступление цинка в клетки осуществляется с участием белков переносчиков, среди которых важную роль играют белки семейства ZIP (*zink-iron-regulated transporter*), в том числе IRT1 (*iron-regulated transporter*). Помимо цинка доказано участие IRT1 в регуляции содержания в клетках ряда других металлов (железо, медь, магний и марганец), что не исключает его возможную роль в механизмах адаптации растений не только к дефициту этих химических элементов, но и к их избытку. Однако исследований, касающихся влияния избытка металлов на активность IRT1 крайне мало. Практически нет данных и о воздействии на этот белок низких температур, хотя известно, что в холодных условиях поступление микроэлементов в корни и их транспорт в надземные органы замедляются. Поэтому задачей нашей работы явилось изучение влияния низкой положительной температуры (4°C) на экспрессию гена *IRT1* в корнях и листьях растений ячменя при оптимальном (2 мкМ) и избыточном (1000 мкМ) содержании цинка в корнеобитаемой среде.

С помощью метода PCR-RT обнаружено, что при действии температуры 4°C на растения в присутствии 2 мкМ цинка, уже через 1 сут количество транскриптов гена *HvIRT1* в органах заметно увеличивается (по отношению к исходному уровню), достигая максимальных значений на 7-е сут. У проростков, находящихся в условиях избытка цинка, еще до начала низкотемпературного воздействия количество мРНК гена в корнях и листьях оказалось несколько выше, чем при 2 мкМ металла. При действии же на них температуры 4°C уровень экспрессии гена в начальный период резко возрастал, особенно в корнях, но через 7 сут снижался в корнях до исходного уровня, а в листьях – почти до нулевых значений.

Предполагается, что обнаруженное увеличение экспрессии гена *HvIRT1* при низкотемпературном воздействии на растения в условиях оптимального содержания цинка необходимо для устранения возникающего в этих условиях дефицита микроэлементов, транспортируемых этим белком. Резкое снижение экспрессии гена при продолжительном (7 сут) действии температуры 4°C на проростки в условиях избытка цинка, очевидно, вызвано нарушением под влиянием охлаждения поглощения ионов, а также снижением «запроса» на элементы минерального питания, например, вследствие замедления скорости фотосинтеза и/или торможения роста.

## РОЛЬ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Кокшарова О.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва Ленинские Горы, дом 1 стр.40, 119991

<sup>2</sup> ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук (ИМГ), Россия, Москва, площадь академика И.В. Курчатова, д. 2, 123182

[koksharova@genebee.msu.ru](mailto:koksharova@genebee.msu.ru), [oa-koksharova@rambler.ru](mailto:oa-koksharova@rambler.ru)

Цианобактерии - древнейшие микроорганизмы, способные к кислородному фотосинтезу и фиксации атмосферного азота. В экосистемах они являются первичными продуцентами органики. Высокая пластичность и приспособляемость цианобактерий обеспечивается большим количеством разнообразных вторичных метаболитов, многие из которых имеют биотехнологическое, медицинское и экологическое значение. Функции этих молекул могут быть связаны с обеспечением как конкурентного преимущества, так и устойчивого развития клеточной популяции продуцента. Одним из механизмов действия вторичных метаболитов является регуляция генной экспрессии в клетках организмов, подвергнутых их воздействию. Цель нашего исследования – изучение функциональной роли небелковой аминокислоты нейротоксического действия бета-N-метиламин-L-аланина (БМАА) [1] в метаболизме цианобактерий. В качестве модельного объекта выбрана *Anabaena* sp. PCC 7120, образующая специализированные клетки - гетероцисты для обеспечения анаэробии в процессе азотфиксации. Мы показали, что экзогенный БМАА репрессирует образование гетероцист в условиях голодания по азоту и дерепрессирует их формирование при росте на среде, содержащей связанный азот [2,3]. На генетическом уровне это влияние БМАА обусловлено изменением экспрессии нескольких ключевых генов, кодирующих как регуляторы транскрипции, так и белки, выполняющие транспортные или ферментные функции в процессе клеточной дифференцировки. Поскольку к синтезу БМАА способны все цианобактерии, можно предположить, что эта аминокислота имеет важное экологическое значение. Участвуя в репрессии формирования гетероцист и в подавлении активности нитрогеназы у diaзотрофных цианобактерий, БМАА позволяет контролировать численность азотфиксирующих цианобактерий в условиях конкуренции за органический азот.

[1] Попова А.А., Кокшарова О.А., Нейротоксичная небелковая аминокислота бета-N-метиламин-L-аланин и ее роль в биологических системах. // 2016, Биохимия, Т. 81, № 8, С. 1023-1035.

[2] Popova A.A., Rasmussen U., Semashko T.A., Govorun V.M., Koksharova O.A., Stress effects of cyanotoxin  $\beta$ -methylamino-L-alanine (BMAA) on cyanobacterial heterocyst formation and functionality. // 2018, Env. Microbiol. Reports, V.10, P. 369-377.

[3] Popova A.A., Semashko T.A., Kostina N.V., Govorun V.M., Koksharova O.A., Cyanotoxin BMAA induces heterocyst specific gene expression in *Anabaena* sp. PCC 7120 under repressive conditions. // 2018, submitted.

**Благодарности:** Работа была выполнена при поддержке РФФИ (грант № 17-04-00412)

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД Г. АЛМАТЫ

Колумбаева С.Ж., Ловинская А.В., Илиясова А.И.

Казахский национальный университет им. аль-Фараби,

Казахстан, Алматы, пр. аль-Фараби, 71

[saule.kolumbayeva@kaznu.kz](mailto:saule.kolumbayeva@kaznu.kz)

Водные объекты, подверженные антропогенной нагрузке, содержат широкий спектр загрязняющих веществ, способных давать токсические и мутагенные эффекты, вызывать стерильность, нарушения метаболизма. Целью исследования явилось изучение токсичности, генотоксичности и мутагенности природных поверхностных вод г. Алматы.

Были исследованы образцы воды из 11 объектов: рек Киши и Улькен Алматы, Бутак, Проходная, Есентай, Кумбель, Кимасар и 4 родников. По значению рН воды можно отнести к слабокислым и нейтральным. Содержание растворенного кислорода варьировало в зависимости от точек пробоотбора от 1,3 до 4,3 мг/л. Низкие показатели растворенного кислорода косвенно показывают, что природные воды г. Алматы являются грязными и загрязненными. В реках превышение ПДК отмечено по Zn, Mn, Pb и в родниках по Pb, Zn. Ни в одном источнике не выявлено превышения ПДК по Ni, Co, Cr, Cd, Cu.

С помощью биолюминесцентного теста установлена высокая токсичность для большинства изученных вод (87%), значительно снижая биолюминесцентный ответ биосенсоров. К ним относятся реки Проходная, Улькен Алматы, Кумбель, родники 1 и 2 (на штаммах MG 1655 (pRecA-lux), MG1655 (pColD-lux)), реки Киши Алматы, Кимасар, Бутак, родники 3 и 4 (на штамме MG1655 (pColD-lux)), р. Есентай (на штамме MG 1655 (pRecA-lux)). Генотоксичность не выявлена.

На растительных тест-объектах *Allium cepa* и *Hordeum vulgare* выявлена токсичность и мутагенность большинства изученных вод. Максимальный ингибирующий эффект оказала вода из р. Бутак (32,45%), а максимальный стимулирующий эффект – из родника-3 (187,31%). На корнях лука, проращиваемых на воде из рек Проходная, Улькен и Киши Алматы, Кумбель, Кимасар, Бутак, родников 1 и 3 на 14 день проращивания отмечена ветвистость, косвенно указывающая на содержание в воде компонентов с мутагенной активностью. Для большинства вод выявлена цитотоксическая (снижение митотического индекса) и мутагенная (статистически значимое превышение частоты структурных и геномных мутаций) активности.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии в изученных поверхностных природных водах г. Алматы экологически опасных компонентов, обладающих токсической и мутагенной активностью и представляющих определенную угрозу для биоты и здоровья человека. В дальнейшем воды из наиболее загрязненных источников будут исследованы на лабораторных млекопитающих (грызуны) с целью экстраполяции полученных данных на человека.

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках проекта МОН РК ГР № 0118РК00044

## ГЕН-ГЕННЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ХРОМОСОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ У РАБОЧИХ УГОЛЬНЫХ ШАХТ

Минина В.И., Савченко Я.А., Баканова М.Л., Рыжкова А.В., Титов Р.А., Соболева О.А., Тимофеева А.А., Астафьева Е.А., Глушков А.Н.

ФГБУН Институт экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Россия, 650043 г. Кемерово, пр. Советский 18

[vminina@mail.ru](mailto:vminina@mail.ru)

Известно, что условия труда на угольных шахтах характеризуются мощным генотоксическим воздействием на организм сотрудников. При этом интенсивность хромосомного мутагенеза в значительной степени варьирует и зависит от конституциональных особенностей организма, определяемых генетическим полиморфизмом ферментов. Эффекты отдельных локусов обычно оказываются крайне неоднозначными, что может быть связано как с многообразием действующих факторов среды, так и с особенностями ген-генных взаимодействий. В связи с этим **целью** данного исследования являлся анализ взаимодействия генов при формировании хромосомных нарушений у шахтеров угольных шахт.

Были обследованы 300 шахтеров угольных шахт Кемеровской области, не менее 10 лет проработавшие под землей (проходчики, горнорабочие очистного забоя, горные мастера). В качестве контроля обследованы 300 здоровых жителей той же местности, не занятых на промышленных предприятиях. Материалом для исследования служила цельная периферическая кровь. Проводили культивирование клеток крови, подготовку препаратов и учет aberrаций хромосом (проанализировано 60 000 клеток). ДНК выделяли из периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Типирование полиморфных вариантов генов: *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP2D6*, *CYP2E*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *NAT2*, *XRCC1*, *XRCC2*, *XRCC3*, *XRCC4*; *hOGG1*, *APEX1*, *PARP1*, *NBS1*, *ATM*, *XPD*, *XPC*, *XPG*, *Ligase IV*, *MTHFR*, *MTR*, *TNF $\alpha$* , *MnSOD*, *CAT*, *GPX1*, *CHEK2*, *EPHX1*, *MMP1*, *TGF $\beta$* , *EGFR*, *TP53* проводили с помощью real-time PCR. Для исследования межгенных взаимодействий использовали метод Multifactor Dimensionality Reduction (MDR).

Установлено, что формирование повышенного уровня повреждений хромосом у шахтеров преимущественно связано с генетическими вариантами: *XPD rs13181*, *CYP1A1 rs1048943*. Значимую роль в реализации генотоксических эффектов производственной среды играют сочетания вариантов генов, контролирующих биотрансформацию ксенобиотиков: *CYP1A1(2455A>G)*- *CYP1A2(-163C>A)*-*GSTP1(313A>G)*-*GSTM1(del)*; антиоксидантную защиту клетки: *MnSOD(47C>T)*- *GPx1(599C>T)* - *CAT(262C<T)*; репарацию ДНК: *ADPRT(2285T>C)*- *ATM(5557G>A)*- *XRCC1(1196A >G)* и *XPG(3310G>C)*-*ADPRT(2285T>C)*-*XPC(2815A >C)*, на основании чего были разработаны модели генетического профиля, значимо ассоциированного с повышенной чувствительностью к действию токсикантов производственной среды угольных шахт. **Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №16-15-00034

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫМ ХЕЛАТНЫМ МИКРОУДОБРЕНИЕМ МАРКИ ЖУСС-2

Пахомова В.М.<sup>1</sup>, Даминова А.И.<sup>1</sup>, Гайсин И.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет», Российская Федерация, 420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 65;

<sup>2</sup>Академия наук Республики Татарстан, Российская Федерация, 420111, г. Казань, ул. Баумана, д. 20

[pahomovav@mail.ru](mailto:pahomovav@mail.ru)

Изучали цитогенетический эффект обработки семян ярового ячменя и озимой ржи Су, Мо – содержащим хелатным микроудобрением марки ЖУСС-2 при трех нормах расхода препарата (2, 4, 6 л/т семян). Исследования осуществляли анафазно - телофазным методом на клетках меристемы первичных корешков зерновых культур. Применение полифункциональных составов приводило к снижению митотической активности клеток и, следовательно, энергии прорастания, а в отдельных случаях и лабораторной всхожести семян зерновых культур. При этом с увеличением норм расхода ЖУСС усиливалось их ингибирующее действие на митоз. Для определения действия этих препаратов на процесс деления была проанализирована активность митоза по фазам и определено их соотношение. Действие ЖУСС-2 в норме расхода 6 л/т приводило к задержке метафазы, анафазы и телофазы по сравнению с контролем (без обработки). Повреждение хромосомного аппарата клетки - один из важных показателей мутагенной активности применяемых веществ. В анафазе и телофазе митоза наиболее распространены следующие формы патологии: мосты и фрагменты, приводящие к элиминированию или случайному воссоединению с различными типами хромосомных aberrаций – обментами, транслокациями и т.д. Максимальная норма расхода ЖУСС-2 (6 л/т) увеличивала процент хромосомных aberrаций в клетках меристемы первичных корешков озимой ржи и ячменя, а более низкие нормы (2 - 4 л/т) снижали их. Таким образом, комплексное изучение митотического режима клеток показало, что данное хелатное микроудобрение способно не только стабилизировать наследственную структуру клеток растений, но и вызывать хромосомные нарушения. Поэтому для биологически активных микроэлементов, источниками которых являются препараты ЖУСС, довольно узок оптимальный интервал концентрации. Одной из причин уменьшения спонтанного мутирования в клетках корней зерновых культур при пониженных нормах расхода препарата является антиоксидантное действие этого полифункционального препарата [1, 2, 3].

[1]. Пахомова В.М. и др., Хелатные микроудобрения марки ЖУСС в устойчивости яровой пшеницы к комбинированному стрессу // 2015, Агротех. Вест., № 6, С. 29 - 31.

[2]. Пахомова В.М. и др., Хелатные микроудобрения с антиоксидантным эффектом // 2017, Уфа, С. 199 – 202.

[3]. Пахомова В.М., Даминова А.И. Применение антиоксидантов в растениеводстве при действии стрессовых факторов среды // 2018, Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды, Иркутск, С. 618 - 622.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЛИЯНИЯ ПРИРОДНОГО СТРЕССА (УСЛОВИЯ ВЫСОКОГОРЬЯ) НА РАСТЕНИЯ

Реутова Н.В.,<sup>1</sup> Малаева М.Б.,<sup>2</sup> Реутова Т.В.,<sup>1</sup> Дреева Ф.Р.,<sup>1</sup> Мисирова А.Х.<sup>3</sup>

1. ФГБНУ «Кабардино-Балкарский научный центр РАН», Россия, г. Нальчик, ул. Балкарова 2; 2. ГБУЗ «Перинатальный центр», Россия, г. Нальчик, ул. Шогенова 4; 3. Университет Национальной технологической инициативы 2035, Россия, г. Москва, ул. Новый Арбат 36.  
[reutova371@mail.ru](mailto:reutova371@mail.ru)

Регионы Северного Кавказа являются уникальной природной лабораторией для изучения влияния природного стресса на живые организмы. Условия высокогорья отличаются интенсивностью таких мутагенных факторов как солнечная (ультрафиолет) инсоляция, повышенная радиация коренных пород и космического излучения. Кроме того, имеет место и достаточно жесткий термический режим, пониженная влажность, сильные ветры, пониженное парциально давление кислорода и др. Аборигенные виды приспособились к таким экстремальным условиям. Но есть целый ряд видов, которые вслед за человеком при строительстве канатных дорог (около 50 лет назад) поднялись до высот в 3000 метров над уровнем моря. Такими видами являются – одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale* Wigg.s.l), подорожник большой (*Plantago major* L.) и щавель конский (*Rumex confertus* Willd.). Целью данной работы является изучение влияния экстремальных условий высокогорья на ряд генетических, морфологических и физиологических признаков растений. Такие работы ведутся в Кабардино-Балкарском научном центре РАН уже на протяжении шести лет. Для выявления генетического влияния на растения мы определяли частоту хромосомных aberrаций (ХА), митотический индекс и соотношений фаз митоза в клетках коневой меристемы у семенного потомства растений трех указанных видов, произрастающих на высотах 200 м, 600 м, 1300 м, 2000 м, 2700 м и 3000 м над уровнем моря. Последние две высоты это участки возле канатных дорог на г. Чегет и Эльбрус. Определяемыми типами ХА были: микроядра (МЯ) в интерфазе и профазе, которые являются результатом делеций или потери целых хромосом в предыдущем митотическом делении; «потерянные» хромосомы в метафазе; фрагменты и «мосты» в ана/телофазе.

В результате проведенных исследований было выявлено, что условия высокогорья не отразились ни на интенсивности деления клеток, ни на соотношении фаз митоза. Частота ХА значительно увеличивалась с ростом высоты над уровнем моря, начиная с высоты 2000 м. На этой высоте частота ХА была выше в 3-9 раз по сравнению с равнинными и среднегорными районами; на высотах 2700 и 3000 м в 5-14 раз. С высотой частота разных типов мутаций возрастает примерно одинаково. Несмотря на большое количество ХА, которые приводят к формированию микроядер, частота клеток с МЯ очень мала и не изменяется с ростом высоты над уровнем моря. Это свидетельствует о том, что мутантные клетки эффективно элиминируются.

## ПРИМЕНЕНИЕ БАТАРЕИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЦЕЛЬНОКЛЕТОЧНЫХ LUX-БИОСЕНСОРОВ В ЭКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Сазыкина М.А. , Сазыкин И.С., Кудеевская Е.М., Журавлева М.В., Карчава Ш.К.,  
Хаммами М.И.

*Южный федеральный университет, Россия, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1;  
samara@sfedu.ru*

Экспресс-оценка загрязнения объектов окружающей среды является необходимым компонентом экологического контроля. Важная роль в решении этой задачи отводится разработке и использованию простых в применении, недорогих, высокочувствительных и специфичных методов обнаружения ксенобиотиков. Одним из наиболее перспективных методов, используемых при проведении мониторинга окружающей среды, является анализ с использованием цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров, в которых в качестве репортеров используются гены бактериальных люцифераз.

Целью работы было формирование батареи lux-биосенсоров и верификация их использования в экотоксикологическом контроле.

Для определения токсичности объектов окружающей среды использовались люминесцентные бактериальные сенсоры, полученные путём трансформации клеток *E. coli* гибридными плазмидами, несущими lux-оперон под контролем необходимых промоторов. Штаммы любезно предоставлены И.В. Мануховым (ФГУП «ГосНИИГенетика») и Л.Р. Птицыным (ЗАО "АГРИ", г. Москва). Также был использован природный штамм *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245. Материалом исследования служили образцы растений, почв, воздуха, бриофлоры, атмосферных осадков, отобранные на территории Ростовской области; донные отложения, гидробионты, вода р. Дон; городские сточные воды, полигоны твердых бытовых отходов.

Результаты исследования показали, что в экотоксикологическом мониторинге окружающей среды необходимо использовать не отдельные сенсоры, а батарею биолюминесцентных тестов, которая позволяет оценить спектр токсического действия всего комплекса присутствующих загрязняющих веществ. Корреляционный анализ результатов, полученных с помощью люминесцентных сенсоров и показателей химического анализа, помог выявить участие отдельных веществ или классов поллютантов в развитии различных токсических эффектов - генотоксичности, прооксидантного эффекта, повреждения белков и мембран и пр. Выявление ранговой корреляционной зависимости между содержанием приоритетных токсикантов и данными, полученными при помощи сенсорных штаммов, а также между результатами самих биолюминесцентных тестов, стало подтверждением правомерности их использования в экологическом контроле.

В результате проведенных исследований разработана концепция использования люминесцентных бактерий в экотоксикологическом мониторинге экосистем. Рассмотрены перспективы, включающие способы повышения эффективности и технологичности тестирования на основе lux-биосенсоров.

**Благодарности:** Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (грант № 6.2379.2017/ПЧ), РФФИ (проект № 17-04-00787).

## К ВОПРОСУ О РОЛИ АНТРОПОГЕННОЙ ИНСУЛЯРИЗАЦИИ В ЭВОЛЮЦИИ СОВРЕМЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ НАЗЕМНЫХ МОЛЛЮСКОВ

Снегин Э.А.<sup>1</sup>, Снегина Е.А.<sup>1</sup>

НИУ «БелГУ», Россия, г. Белгород, ул. Победы 85

[snegin@bsu.edu.ru](mailto:snegin@bsu.edu.ru)

По некоторым представлениям критерием стабильного существования популяции является уровень ее аллельного и генотипического разнообразия. При этом в изолированной и малочисленной популяции аллельное разнообразие, которое служит «мобилизационным резервом», уменьшается вследствие инбридинга. Этот эффект у гермафродитных видов наземных моллюсков может быть усилен самооплодотворением. В дальнейшем повышается вероятность выщепления рецессивных мутаций с отрицательным эффектом, вызывающим снижение жизнеспособности таких групп. При этом переход какого-либо аллеля в гомозиготное состояние для особи и популяции может стать физиологически оптимальным, но для каких-то узких условий среды. А сдвиг этих условий может стать катастрофой в силу уменьшения приспособленности. В этом заключается полезное и, одновременно, опасное свойство гомозиготизации. Однако стоит отметить также, что никакого объективного стандарта, по которому можно было бы сравнивать уровень гетерозиготности, не существует, и эволюционное значение ее до конца не понято. Это касается и наземных моллюсков, которые в силу относительной малоподвижности и приуроченные к более влажным элементам рельефа, исходно обитали в условиях повышенной изоляции. В популяциях этих организмов длительное время шел отбор против рецессивных аллелей, отсюда отрицательное воздействие инбридинга в них намного меньше, чем в группах подвижных организмов. Даже если в малочисленных популяциях происходило закрепление вредных мутаций с большим фенотипическим эффектом, то последствия их деятельности могли быть нейтрализованы полигенными модификаторами, а также компенсаторными комплексами генов. Кроме того, известно, что для метапопуляций, состоящих из большого числа мелких популяций, что собственно мы часто и наблюдаем в случае с наземными улитками, фрагментация может оказаться не столь значимой, т.к. размеры их демов невелики и случайные отклонения в успешности размножения в них будут приближаться к таковым в больших популяциях. В данном контексте важны также положения «теории эволюции со смещающимся равновесием» (shifting balance theory of evolution), согласно которым понижение изменчивости в субпопуляциях вызывает повышение изменчивости между популяциями. Таким образом, отрицательный эффект антропогенной инсуляризации (т.е. разобщения популяций) в отношении наземных моллюсков может быть незначительным, а повышение вероятности гибели групп улиток в большей степени связано с непосредственным влиянием человека, вызывающим деградацию естественных биотопов.

## ГЕНЕТИКА ПИГМЕНТОВ ФОТОСИНТЕЗА: ХЛОРОФИЛЛОВ И КАРОТИНОИДОВ. ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Чекунова Е.М.

*Кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия*

*[elena\\_chekunova@mail.ru](mailto:elena_chekunova@mail.ru)*

Хлорофиллы и каротиноиды – пигменты всех фотосинтезирующих организмов. Их биосинтез связан с морфогенезом растительной клетки и реакциями фотосинтеза – запасанием и использованием энергии света. На тилакоидных мембранах хлоропластов световая энергия поглощается пигмент-белковыми светособирающими комплексами (ССК) двух фотосистем. Типичный апопротеин ССК фотосистемы 2 связывает 17 молекул пигментов, из которых 3 – каротиноиды (ксантофилы) и 14 – хлорофиллы *a* и *b*. Хлорофиллы – природные тетрапирролы. Они относятся к металлопорфиринам и принадлежат к магниевой ветви метаболических превращений протопорфирина IX. Каротиноиды - полиненасыщенные углеводороды терпенового ряда. Их биосинтез проходит по нормальному изопреноидному пути, дающему начало многим природным соединениям, включая стероиды и фитольные «хвосты» хлорофиллов. Большинство каротиноидов усваивают световую энергию синей области спектра в диапазонах длин волн ( $\lambda = 400-600$  нм), недоступных для хлорофиллов, и передают её на хлорофиллы. Помимо светосборки, важная функция каротиноидов состоит в защите клетки от фотодеструкции. Для изучения метаболизма хлорофиллов и каротиноидов широко используют пигментные мутанты растений и фотосинтезирующих микроорганизмов. Применение методов генетики, геной инженерии, геномики, протеомики и биоинформатики позволило не только идентифицировать гены, контролируемые ферменты, задействованные в этих процессах, но и установить механизмы их регуляции. Уровень современных знаний позволяет утверждать, что синтез хлоропластных пигментов взаимосвязан с реакциями фотосинтеза, биогенеза хлоропластов, фотоморфогенеза. Реализация генетических процессов, контролирующая функционирование пигментов фотосинтеза, находится под системным контролем целого ряда эндогенных и экзогенных факторов (свет, кислород, фитогормоны, сахара и т.д.), определяющих состояние хлоропластов. Установлено, что физиологический статус хлоропласта влияет на экспрессию ядерных генов, контролирующих реакции фотосинтеза, через систему сигналов, одним из основных атрибутов которой, помимо белков, являются тетрапирролы – интермедиаты биосинтеза хлорофилла. Генетические механизмы световой, ретроградной, гормональной и метаболической регуляции, редокс-контроля и апоптоза в фотосинтезирующей клетке тесно связаны и образуют единую сеть, неотъемлемую частью которой составляют процессы биосинтеза тетрапирролов и каротиноидов. В последние годы удалось обнаружить значительное количество факторов, участвующих в этих процессах, при этом раскрытие многих тайн еще предстоит.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КАРИОТИПА *Gmelinoides fasciatus* В ИЗУЧЕНИИ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ И МОНИТОРИНГЕ ВОДНОЙ СРЕДЫ

Барабанова Л.В. , Михайлова Е.И., Галкина С.А.

Санкт-Петербургский государственный университет

Россия, Санкт-Петербург, 199034 Университетская наб., д.7/9

[l.barabanova@spbu.ru](mailto:l.barabanova@spbu.ru)

Байкальская амфипода *Gmelinoides fasciatus* в последнее время приобрела особый интерес в связи с ее широкими адаптационными способностями. Это позволяет биологам разных направлений рассматривать данный объект в качестве модели для изучения фундаментальных механизмов приспособления к меняющимся условиям окружающей среды. В свою очередь, широкое распространение аборигенного гидробионта озера Байкал в водоемах центральной и северо-западной части России, а также особенности его жизненного цикла предоставляют возможность рассматривать *G. fasciatus* в качестве индикаторного вида в мониторинге окружающей среды. Эмбриональные стадии развития удобны для молекулярно-цитогенетического анализа благодаря большому количеству активно делящихся митотических клеток. Ана-телофазный метод продемонстрировал, что в клетках эмбрионов рачков, обитающих в условно чистых местах, частота хромосомных аномалий не отличается от спонтанного уровня, характерного для других беспозвоночных животных. В то же время у амфипод, обитающих в местах с антропогенной нагрузкой, частота структурных нарушений хромосом достоверно увеличивается. Ответную реакцию гидробионтов на стрессовое воздействие в виде изменения условий среды обитания можно оценить и с помощью молекулярно-цитогенетических показателей. Неотъемлемой частью этой работы является получение характеристики кариотипа изучаемого вида. Так, окрашивание хромосом DAPI позволило выявить А-Т богатые блоки хроматина. Их центромерное положение облегчило подсчет хромосом и подтвердило значение диплоидного числа, равного 52. Флуоресцентная гибридизация (FISH) с теломерным повтором (TTAGG)<sub>n</sub> позволила локализовать его на концах и в интерстициальных районах хромосом. С использованием пары специфичных для *G. fasciatus* праймеров был амплифицирован фрагмент гена 18S rRNA. Сравнительно-молекулярный анализ структуры данного гена у амфипод из исходной (озеро Байкал) и инвазивных (Финский залив, Ладожское озеро) популяций показал отсутствие изменчивости. Проведенный анализ структуры митохондриального гена цитохромоксидазы COI подтвердил принадлежность амфипод автохтонной и инвазивных популяций к одному виду *G. fasciatus*. FISH с зондом 18S rDNA позволила выявить вариации числа ядрышкообразующих районов на хромосомах в разных популяциях, что позволяет обсуждать их значение в адаптации к новым условиям среды обитания.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 15-29-02526 и Президента Российской Федерации в поддержку Ведущих научных школ 9513.2016.4 в РЦ НП СПбГУ.

## **ВЛИЯНИЕ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ *CU/ZNSOD1*, *CAT2* И АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ЛИСТЯХ ЯЧМЕНЯ ПРИ ОПТИМАЛЬНОМ И ВЫСОКОМ СОДЕРЖАНИИ ЦИНКА В КОРНЕОБИТАЕМОЙ СРЕДЕ**

Батова Ю.В. , Репкина Н.С., Казнина Н.М., Титов А.Ф.

*Институт биологии – обособленное подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельского научного центра Российской академии наук», Россия, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11*  
[batova@krc.karelia.ru](mailto:batova@krc.karelia.ru)

В условиях лабораторного опыта с помощью метода ПЦР-РВ проведено изучение влияния низкой положительной температуры (4°C) на транскрипционную активность гена *HvCu/ZnSOD1*, кодирующего хлоропластную изоформу Cu/Z –СОД и *HvCAT2*, кодирующего изоформу каталазы, которая предположительно участвует в реакции на абиотические стрессы, в листьях проростков ячменя при оптимальном (2 мкМ) и высоком (1000 мкМ) содержании цинка в корнеобитаемой среде. Одновременно с этим в листьях спектрофотометрически определяли общую активность супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ), а также содержание малонового диальдегида (МДА) – индикатора уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Установлено, что при низкотемпературном воздействии в оптимальных условиях минерального питания количество транскриптов гена *HvCAT2* уже через 1 сут увеличивалось в 9 раз, а через 3 сут в 5.5 раз возрастало и содержание мРНК гена *HvCu/ZnSOD1*. Одновременно повышалась и активность СОД и КАТ, способствуя поддержанию низкого уровня ПОЛ. В условиях избытка цинка до начала низкотемпературного воздействия уровень экспрессии *HvCu/ZnSOD1* значительно превышал контрольные значения, количество же транскриптов гена *HvCAT2*, наоборот, было ниже, чем в контроле. В начальный период действия температуры 4 °С (1-3 сут) количество мРНК *HvCu/ZnSOD1* продолжало увеличиваться, а уровень транскриптов *HvCAT2* не изменялся. Однако спустя 7 сут количество мРНК *HvCu/ZnSOD1* снижалось по отношению к исходному уровню в 1.2 раза, а транскриптов *HvCAT2* – в 6 раз. Динамика активности СОД и КАТ соответствовала изменению уровня экспрессии изученных генов. При этом в клетках увеличивалось содержание МДА, что указывает на усиление окислительного стресса.

Полученные результаты свидетельствует о том, что гены *HvCu/ZnSOD1* и *HvCAT2* являются участниками процесса холодовой адаптации растений ячменя. Усиление их экспрессии, и увеличение активности СОД и КАТ в условиях действия пониженной температуры при оптимальной концентрации цинка в корнеобитаемой среде препятствует развитию в клетках растений окислительного стресса. В отличие от этого, разнонаправленные изменения в экспрессии этих генов, а также нарушение согласованности в работе соответствующих ферментов, наблюдаемые в условиях избытка цинка, ведут к усилению окислительного стресса и, как следствие, к снижению адаптационных возможностей растений

## ОЦЕНКА ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛЮДЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ БЫВШЕГО ХРАНЕНИЯ ЗАПАСОВ УСТАРЕВШИХ ПЕСТИЦИДОВ

Сейсенбаева А., Муратова Ф., Чередниченко О., Байгушикова Г., Сапаргали О.,  
Амиргалиева А., Джансугурова Л., Бекманов Б., Хусаинова Э.

РГП «Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК,

Республика Казахстан, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 93,

[bobekman@rambler.ru](mailto:bobekman@rambler.ru)

Среди химических загрязнителей среды особую опасность представляют стойкие органические загрязнители (СОЗ). Даже в малых дозах СОЗ представляют угрозу для человека и природы. В Казахстане проблема устаревших, непригодных к применению пестицидов, является весьма актуальной.

Для определения воздействия длительного пестицидного загрязнения среды на генетический статус людей нами был проведен цитогенетический анализ сельского населения трех поселков в Алматинской области - пп. Бескайнар, Кызылкайрат и Таукаратурык. При изучении частоты хромосомных aberrаций (ХА) проанализировано 12385 метафазных пластинок от 93 человек. Наибольшая частота ХА наблюдается у жителей п. Бескайнар ( $1,88 \pm 0,24\%$ ), при этом она достоверно отличается ( $p \leq 0,001$ ) от аналогичных данных в пп. Кызылкайрат ( $0,72 \pm 0,16\%$ ) и Таукаратурык ( $0,85 \pm 0,12\%$ ).

Обследованный контингент был разделен на три группы: лица, имеющие ХА в лимфоцитах периферической крови до 2% (спонтанный уровень), от 2 до 4% (повышенный) и более 4% (высокий). У 90% обследованных жителей п. Таукаратурык частота выявленных хромосомных нарушений не превышала общепопуляционного спонтанного уровня для Казахстана, и у 10% она оказалась повышенной. У 3% обследованных жителей пп. Кызылкайрат и Бескайнар обнаружен высокий (более 4%) уровень хромосомных нарушений, и 23% обследованных лиц из п. Бескайнар имеют повышенный (2-4%) уровень нарушений в лимфоцитах периферической крови. Согласно анкетным данным было выявлено, что наибольший процент людей, имеющих хронические заболевания, представлен среди обследуемых жителей п. Бескайнар (67%), причем 55% из них имеют заболевания сердечно-сосудистой системы. Кроме того, у жителей п. Бескайнар, соотношение aberrаций хромосомного и хроматидного типов сдвинулось в сторону aberrаций хромосомного типа (1:1,3). Превалирование аномалий хромосомного типа может свидетельствовать о воздействии ионизирующей радиации, однако источников радиации на территории п. Бескайнар не установлено. В литературе встречаются упоминания, что к индукции aberrаций хромосомного типа, обусловленных двунитевыми разрывами ДНК, может приводить очень сильное действие химических мутагенов. Таким образом, мы предполагаем, что повышенная частота хромосомных нарушений у жителей п. Бескайнар вызвана влиянием **многолетней пестицидной загрязненности территории.**

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках научно-технической программы №BR05236379.

## ЭКОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В ТЕСТ-СИСТЕМАХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ДЛЯ РАДОНООПАСНЫХ ТЕРРИТОРИЙ

Бияшева З.М., Тлеубергенова М.Ж., Зарипова Ю.А., Юшков А.В.

*Казахский Национальный университет имени аль-Фараби, НИИ проблем биологии и биотехнологии, Казахстан, 050040, г. Алматы, ул. аль-Фараби, 71, корпус №6  
zarembiya@gmail.com*

Естественная радиация Земли на 50% обусловлена газом радоном и продуктами его распада. Радон высвобождается из земной коры повсеместно, его концентрация существенно различается для различных точек земного шара. Алматинская область ввиду наличия большого количества тектонических разломов, усиливающих эманацию радона, может быть отнесена к радоноопасным территориям. В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы было вычисление коэффициента спада барометрической формулы (коэффициента концентрации радона) в зависимости от расстояния до тектонического разлома и изучение генетических эффектов воздействия сверхнормативных доз радона на модели альфа-излучения. Используя полученный коэффициент можно построить график зависимости объемной альфа-активности для объекта, если известно его расстояние от тектонического разлома. Использовали две тест-системы: со сцепленными X-хромосомами и системы со сцепленными X-хромосомами и одновременно сцепленными X-У хромосомами дрозофилы. Нами были исследованы эпигенетические эффекты альфа-частиц, которые в окружающей среде в основном генерируются радоном и его изотопами. В эксперименте в качестве источника альфа-частиц использовали изотоп плутония-238 ( $\text{Pu}^{238}$ ), генерирующий излучение с энергией около 5500 кэВ. В эксперименте в первом поколении ( $F_1$ ) были обнаружены уродства, или морфозы, которые можно назвать «лучевыми синдромами» или мутациями, проявление которых схоже с плейотропным действием генов. Доля морфозов в эксперименте составила 1,8%, а в контроле 0,4%. В данном опыте морфозы у мушек дрозофилы первого и второго поколений выглядели как черные пятна, или меланомы на различных частях тела имаго; «генерализованные» меланомы; закрученные, изогнутые крылья; укороченное крыло; пузырь на одном крыле; отсутствие одного крыла, деформация торакса, прерывание и нарушение рисунков тергитов, нарушение распределения глазных фасеток и волосков; отсутствие пигментации второй и третьей ног. Статистический анализ методом Хи-квадрат показал достоверность различия эксперимента и контроля при  $P \leq 0,01$ . На основании этого можно считать, что альфа-частицы, с помощью которых была смоделирована ситуация на радоноопасных территориях, обладают мутагенным влиянием проявляющимся, в основном, в формировании морфозов или уродств.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан по гранту AP05133577.

## IMPROVING THE ALPHA-TEST TO DETECT PRIMARY LESIONS IN ALIVE YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Zhuk A.<sup>1,2</sup>, Stepchenkova E.<sup>1,2</sup>, Inge-Vechtomov S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Saint-Petersburg State University, <sup>2</sup>Saint-Petersburg Branch of Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Russia, Saint-Petersburg, 7-9 Universitetskaya Emb.

[ania.zhuk@gmail.com](mailto:ania.zhuk@gmail.com)

The growing use of new chemicals and technologies in medicine or everyday life requires their testing for genotoxicity to prevent damages in the human genome and other organisms. Various genotoxic factors (physical, chemical and biological mutagens) usually induce specific type of mutations: gene, chromosomal or whole genome changes. There is no a universal method for the simultaneous detection of all types of mutations and genetic activity of mutagenic factors of different nature. Modern tests to diagnose genome instability should be high sensitive to mutagens, high throughput, and ability to determine different types of DNA damages, point mutations, structural chromosomal aberrations, and recombination. To deal with this problem earlier we developed a test system in yeast *Saccharomyces cerevisiae* (alpha-test). The alpha-test is a unique test with wide specificity. It allows to identify and evaluate the frequency of primary DNA lesions, chromosome loss, chromosome arm loss, recombination, conversion, and gene mutations. The present work aims at improving the alpha-test by using flow cytometry technologies.

The alpha-test is based on genetic system controlling the mating types in heterothallic yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast haploid cells express one of two mating types: a or  $\alpha$  (alpha), that controlled by two idiomorphs *MATa* or *MAT $\alpha$* , respectively. Normally, haploids of a type mate with  $\alpha$  cells and form a/ $\alpha$  diploids. If the *MAT $\alpha$*  locus expression is disturbed by physical deletion or transient damage  $\alpha$ -cells switch mating type to a type and can mate with  $\alpha$ -cells. To register mating type switching caused by mutations or lesions in the *MAT $\alpha$*  we use two strains of the  $\alpha$ -type and selective medium to estimate the frequency of  $\alpha \times \alpha$  hybrids formation. Here we suggest another approach for quantitation of DNA lesions and mutations in the *MAT $\alpha$*  locus. It is based on registration of amount of cells expressing the *pMF1-GFP* reporter in  $\alpha$  type strain culture treated by a DNA damaging agent. In this case, mating type switching  $\alpha \rightarrow a$  caused by damage or mutation in the *MAT $\alpha$*  locus leads to an increase in the GFP fluorescence, that can be detected by a flow cytometer. The study was funded by RFBR grant 18-34-00130.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАДИАЦИИ НА ПОПУЛЯЦИИ ЧЕЛОВЕКА

Ижевский П.В.

ФГБУ ГНЦ Федеральный Медицинский Биофизический Центр им.А.И. Бурназяна ФМБА России, Россия, Москва 123182, г. Москва, ул. Живописная, 46.

[izhevski@rambler.ru](mailto:izhevski@rambler.ru)

Генофонд популяций человека постоянно подвергается атакам мутагенов окружающей среды, что может приводить к изменению частоты мутаций *de novo*, спектра и степени выраженности фенотипического проявления эффектов. Безопасное использование ядерной энергетики невозможно без прогнозирования возможных изменений в популяциях подвергающихся хроническому облучению в малых дозах.

Традиционно интенсивность мутагенеза оценивают по изменению частот легко регистрируемых патологических состояний на единицу дозы принимаемых равновероятными для всех типов мутаций *de novo*. Недостаточность знаний структуры генома и неточности при определении частот индуцированных мутаций предопределяет выбор в качестве способа оценки «метод удваивающей дозы». Не менее важен выбор маркера - социально и биологически значимого эффекта, по которому следует оценивать интенсивность индуцированного излучением мутагенеза. Такими маркерами могут быть не только связанные с мутациями Менделевские болезни, но и мультифакториальные признаки, например, врожденные аномалии среди новорожденных и неблагоприятные исходы беременностей (НИБ). Кроме того, для прогнозирования долговременных изменений частот наследственной патологии в популяциях подвергающихся хроническому облучению в малых дозах, необходимо одновременное определение генетико-демографических показателей (витальных статистик, индекса Кроу).

Цель. Определение дозы внешнего облучения удваивающей частоту неблагоприятных исходов беременностей (НИБ) в семьях экспонированных лиц и прогнозирование изменений в популяциях подвергающихся хроническому облучению в малых дозах.

Результаты. В популяциях подвергавшихся воздействию радиации, определены:

1. частоты НИБ в 226 популяциях подвергшихся радиационному воздействию после аварии на Чернобыльской АЭС. Дополнительные к естественному фону расчетные дозы облучения за первые шесть лет после аварии составили от 4 до 152 мЗв.
2. доза внешнего облучения, удваивающая частоту случаев НИБ у 1-го поколения потомков экспонированных лиц.
3. частота врожденных аномалий среди новорожденных у населения и в семьях персонала предприятий постоянно контактирующего с мутагенами.

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ГЛИФОСАТА И ГЛИФОСАТСОДЕРЖАЩЕГО ГЕРБИЦИДА РАУНДАП

Илюшина Н.А., Аверьянова Н.С., Егорова О.В., Масальцев Г.В., Ревазова Ю.А.

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Россия, г. Мытищи, Московской обл., ул Семашко д. 2

[Iyushina-na@mail.ru](mailto:Iyushina-na@mail.ru)

Международное агентство по изучению рака после анализа имеющихся данных пришло к выводу о существовании строгих доказательств того, что глифосат оказывает канцерогенное действие, которое, по-видимому, обусловлено двумя ключевыми свойствами, присущими многим канцерогенам: генотоксичностью и способностью индуцировать окислительный стресс. Глифосат был классифицирован как возможный канцероген для человека (группа 2А). Однако на основании большого количества публикаций и отчетов, поданных в международные регуляторные органы, сформировалось и противоположное мнение о том, что при надлежащем применении с соблюдением всех норм и требований глифосат и глифосат-содержащие продукты не представляют генотоксической и/или канцерогенной опасности в реальных условиях. В результате, гербициды на основе глифосата были одобрены для применения в более чем 160 странах мира с некоторыми ограничениями, касающимися использования в общественных местах и следования принципам надлежащей сельскохозяйственной практики. В Российской Федерации глифосат был отнесен к подклассу 2С по канцерогенности.

Учитывая противоречивые заключения об опасности глифосата нами были проведены исследования генотоксичности разных технических продуктов глифосата и препарата Раундап, ВР (360 г/л) с использованием теста Эймса, микроядерного теста *in vivo* на млекопитающих и метода ДНК-комет.

Глифосат технический не индуцировал обратные генные мутации у бактерий *S.typhimurium*. В микроядерном тесте на эритроцитах костного мозга мышей линии CD-1 технические продукты глифосата нескольких производителей вызывали разные эффекты. Генотоксичность наблюдали только в случае содержания в техническом продукте примеси формальдегида на уровне 0,13%. При более низком содержании формальдегида не выявлено значимых эффектов. Методом ДНК-комет показано, что глифосат индуцировал повреждения ДНК в клетках костного мозга мышей только при очень высокой дозе (2000 мг/кг м.т.). В клетках печени наблюдаемые эффекты были статистически незначимы.

Препарат Раундап, ВР (360 г/л) оказался более токсичным *in vitro* и *in vivo*, чем глифосат, однако генотоксического действия не было выявлено ни в одном из тестов.

Таким образом, можно заключить, что глифосат и препараты на его основе могут оказывать слабое генотоксическое действие за счет примесей, содержание которых может варьировать из-за различий в технологических процессах получения технических продуктов и, как следствие, приводить к противоречивым результатам экспериментальных исследований.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ТЕСТ-ОБЪЕКТОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНОТОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ТОКСИНОВ СИНЕ-ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ

Ковалева М.И.<sup>1</sup>, Сиделев С.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова,

Россия, Ярославль, ул. Советская, 14

[kovalevamargo@rambler.ru](mailto:kovalevamargo@rambler.ru)

В условиях растущего антропогенного загрязнения водоемов массовое развитие цианобактерий приобретает глобальный характер. Цианобактерии являются источником разнообразных вторичных метаболитов, в т. ч. токсинов и ингибиторов ферментов. Ранее показано, что ряд цианотоксинов, в том числе и микроцистин-LR обладают канцерогенной активностью.

В настоящее время отмечается экспансия южных видов в северные водоёмы. Так в 2010 году Бабаназаровой О.В с соавтор. (2013) в озере Неро (Ярославская обл.) был отмечен вид *Cylindrospermopsis raciborskii*, который встречается только в южных водоемах.

В данном докладе представлены результаты изучения генотоксической активности токсинов сине-зеленых водорослей. В качестве материалов использовались препараты токсинов цилиндроспермопсин (CYN) и микроцистин-LR (MC-LR), производство - фирма Abaxis (USA). Для изучения использовались концентрации препаратов 1, 10 и 100 мкг/л.

Постановка опытов производилась по стандартной методике. Учитывались такие показатели как частота видимых мутаций (метод макроколоний), выживаемость, диаметр и площадь колоний у *Chlorella vulgaris*. В *Allium* тесте учитывались митотический и фазные индексы, частота нарушений митоза, хромосомные aberrации на стадии ана- и телофазы.

Использованные объекты позволяют регистрировать ряд токсикогенетических параметров, характеризующих токсическое, митозмодифицирующее и мутагенное действие фактора.

Результаты: при воздействии изученных концентраций микроцистина выживаемость клеток хлореллы снижается, уменьшается и размер выросших колоний. Регистрируемый эффект зависит от концентрации препарата и времени воздействия. Микроцистин и цилиндроспермопсин снижают пролиферативную активность *Allium cepa* за счёт снижения метаболических процессов и нарушения формирования ахроматинового веретена деления. Влияние микроцистина на меристематическую ткань лука оказалось более выраженным.

При воздействии цилиндроспермопсина наблюдается прямая зависимость частоты индуцированных мутаций у *Chlorella vulgaris* от концентрации препарата. Микроцистин в низких концентрациях не индуцирует ХА, в высоких концентрациях оба препарата обладают генотоксической активностью. При сравнении использованных объектов обнаружено, что наибольшей чувствительностью и информативностью обладает *Allium test*.

## ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННОГО ЭФФЕКТА ОБРАЗЦОВ ВОДЫ И ПОЧВЫ, СОБРАННЫХ В МЕСТАХ ХРАНЕНИЯ УСТАРЕВШИХ, ЗАПРЕЩЕННЫХ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПЕСТИЦИДОВ НА РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ

Мить Н.В., Хамдиева О.Х., Мусаева А.С., Чередниченко О.Г., Амиргалиева А.С.,  
Бегманова М.О., Толебаева А.Д., Койшекенова Г.А., Джансугурова Л.Б., Бекманов  
Б.О.

*Институт общей генетики и цитологии КН МОН РК,  
Казахстан, Алматы, пр. Аль-Фараби, 93*

*nata-mit@yandex.ru*

Неутилизированные, запрещенные к использованию пестициды (в частности, ДДТ и его производные) являются проблемой для окружающей среды, поскольку хранятся в ненадлежащих условиях, часто под открытым небом, аккумулируются в окружающей среде и не разрушаются длительное время. Целью данной работы была оценка мутагенного эффекта проб воды и почвы, собранных в местах хранения пестицидов в Талгарском районе Алматинской области (Казахстан).

Были собраны пробы воды и почвы вблизи мест хранения неутилизированных пестицидов в пп. Кылызайрат и Бескайнар, а также в п. Таукаратурык, где отсутствуют склады пестицидов. Химический анализ проб воды выявил, что во всех образцах воды присутствуют различные метаболиты ДДТ (1,7-5,4 мг/дм<sup>3</sup>). Во всех исследованных пробах почвы содержатся продукты распада пестицидов в концентрациях, превышающих ПДК в 10-15 раз, в том числе и в п. Таукаратурык, первоначально выбранном в качестве контроля. Мутагенный эффект проб воды и почвы определяли в краткосрочных скрининговых тестах с использованием различных модельных систем: плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, в тесте Эймса на штаммах *Salmonella typhimurium* T98 и T100, в культурах лимфоцитов человека и животных. Автоклавированные пробы воды/почвенные вытяжки в различных концентрациях добавляли в питательную среду либо в культуральную смесь. У дрозофилы оценивали частоту летальных мутаций в X-хромосоме, в аутосомах и частоту морфологических изменений имаго; у сальмонелл – частоту реверсий к норме, в культурах лимфоцитов человека и животных – частоту хромосомных aberrаций и геномных мутаций. Установлено, что исследованные пробы вызывают мутагенный эффект от слабого до умеренного, причем различные системы имеют разную чувствительность к исследованным образцам. Так, тест Эймса показал слабую мутагенность всех проб из п. Бескайнар, и проб воды из пп. Кызылкайрат, Таукаратурык. У дрозофилы во всех случаях повышалась частота морфозов и летальных мутаций в аутосомах, но не в X-хромосоме. Также выявлена мутация, изменяющая число фасеток глаз. В культурах лимфоцитов овец пробы воды из пп. Бескайнар и Кызылкайрат достоверно повышали частоту хромосомных и геномных мутаций, в то время как в культурах лимфоцитов человека не отмечено статистически достоверного повышения частоты хромосомных aberrаций. Таким образом, пробы, загрязненные продуктами распада запрещенных пестицидов, оказывают генотоксическое действие на объекты разного уровня биологической организации.

Работа выполнена в рамках НТП №BR05236379.

## НАРУШЕНИЯ СНА И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ В БУККАЛЬНОМ ЭПИТЕЛИИ У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ЗАПОЛЯРЬЯ

Петрашова Д.А.<sup>1</sup>, Пожарская В.В.<sup>1</sup>, Коломейчук С.Н.<sup>2</sup>, Михайлов Р.Е.<sup>1</sup>, Мартынова А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательского центра медико-биологических проблем адаптации человека в Арктике, ФИЦ Кольский научный центр РАН, Россия, Апатиты, Ферсмана 41а;

<sup>2</sup>Институт биологии, ФИЦ Карельский научный центр РАН  
[dinapetrashova@mail.ru](mailto:dinapetrashova@mail.ru)

Проживание в условиях Крайнего Севера накладывает свои особенности на формирование реакции на стрессовые факторы различной природы. Отсутствие постоянного режима смены день/ночь вынуждает организм приспосабливаться, что сказывается на сезонном профиле и хронотипе человека, а это в свою очередь отражается на качестве его сна, дневной сонливости. На данный момент нет исследований, посвященных вкладу нарушения режима сон-бодрствование в дестабилизацию генома в условиях проживания за Полярным Кругом.

Исследование проводилось в сентябре 2018 г. в пгт. Умба Терского р-на Мурманской обл. Группа состояла из 50 детей в возрасте 10-17 лет. Проводилось интервьюирование, психологическое тестирование и цитогенетический анализ буккального эпителия. Использовались Мюнхенский тест для оценки хронотипа, Питтсбургский тест для оценки качества сна и русская версия опросника PDSS -детская шкала дневной сонливости.

Средние значения частот встречаемости клеток буккального эпителия с микроядрами не превышают среднепопуляционные показатели ( $3.4 \pm 0.50\%$ ).

Корреляционный анализ частоты встречаемости клеток буккального эпителия с микроядрами показал ассоциацию с вопросом PDSS “Чувствуете ли Вы себя обычно бодрым большую часть дня?” (всегда - 0 баллов, никогда - 4 балла) ( $R=0.55$ ,  $p \leq 0.05$ ). Следовательно, эмоциональная дезадаптация приводит к повышению чувствительности генома к генотоксическим воздействиям. Другая биологически значимая отрицательная обратная зависимость обнаружена с частотой встречаемости микроядер в клетках буккального эпителия и хронотипом ( $R= -0.43$ ). Таким образом, смещение хронотипа к более позднему вносит определенный вклад в дестабилизацию генома детей.

Протрузии ядра в клетках буккального эпителия показывают достоверную отрицательную связь с вопросом PDSS “Как часто Вы чувствуете себя уставшим и раздражительным в течение дня?” ( $R=-0.68$ ). Частота встречаемости клеток с ядерной почкой и протрузией “разбитое яйцо” были также достоверно ассоциированы с вопросом PDSS “Как часто Вы думаете, что Вам не хватает сна?” ( $R=0.70$  и  $R=0.65$ ).

Для оценки степени нарушения пролиферации клеток буккального эпителия при проведении анализа препаратов учитывались клетки с двумя и более ядрами и клетки с круговой насечкой ядра. Частота встречаемости клеток буккального эпителия с более чем одним ядром ассоциирована с вопросами PDSS “Как часто Вы испытываете трудности пробуждения по утрам?” и “Как часто Вы снова засыпаете после того как проснетесь утром?” ( $R=0.68$  и  $R=0.74$ ).

## МИКРОЯДРА В КЛЕТКАХ АПИКАЛЬНОЙ КОРНЕВОЙ МЕРИСТЕМЫ ПРОРОСТКОВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (*QUERCUS ROBUR L.*)

Попова А.А.<sup>1</sup>, Попова В.Т.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г. Ф. Морозова», Россия, Воронеж, ул. Тимирязева, 8;

[logachevaaa@rambler.ru](mailto:logachevaaa@rambler.ru)

Микроядра морфологически сходны с основным ядром клетки, но уступают ему значительно в размере, могут содержать как целые хромосомы, так и хромосомные фрагменты. Эти структуры обнаруживаются в интерфазных клетках в цитоплазме. Отмечается, что большинство микроядер формируется при замедленном расхождении хромосом к полюсам делящейся клетки. Микроядра возникают в клетке при нарушениях процесса деления. Процессы образования микроядер связаны с хромосомной нестабильностью в клетке [1]. В зависимости от вида организма естественное возникновение (не индуцированное поллютантами или веществами-терратами) микроядер происходит с разной степенью интенсивности. Микроядерный тест является одним из методов оценки хромосомных нарушений и часто используется для определения влияния различных факторов на живые организмы. Среди древесных растений, в Центрально-Черноземном регионе основными являются сосна обыкновенная, береза повислая, дуб черешчатый. Для данных видов древесных растений были широко изучены их митотические характеристики и появление патологий митоза в ответ на мультифакториальное загрязнение окружающей среды. Для сосны обыкновенной, березы повислой, разных видов рода Тополь характерно появление микроядер. Для дуба черешчатого формирование микроядер в интерфазных клетках не характерно. Нами в 2009 г. были обнаружены микроядра в клетках апикальной корневой меристемы проростков дуба черешчатого только на одной изученной территории, находящейся в городской черте Воронежа, однако присутствие их было единичным. В продолжающихся исследованиях митотических характеристик (2010-2018 гг), в том числе нарушений митоза, в разных районах исследования Воронежской области и г. Воронежа не выявило массового появления микроядер в интерфазных клетках апикальной корневой меристемы. В условиях высокой антропогенной нагрузки вблизи автодорог можно зафиксировать появление микроядер. Для этих территорий среди делящихся клеток отмечается высокий процент патологических митозов, задержкой клеток на стадии метафазы, анафазы митоза.

Таким образом, для дуба черешчатого отмечаются единичные случаи появления микроядер в меристеме корня для территорий произрастания деревьев с высокой антропогенной нагрузкой. Для уточнения данных необходим анализ верхушечных почечных меристем для уточнения устойчивости почечных меристем к антропогенному воздействию.

[1]. Ильинских Н.Н., Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность / Томск: Изд-во Том. ун-та, 1991 — 272 с.

## ГЕНОМНЫЕ ОСТРОВА БАКТЕРИЙ: ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ЗНАЧИМОСТЬ И СТРУКТУРНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ

Румянцева М.Л., Черкасова М.Е., Мунтян В.С.

ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, г. Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, д. 3.

[mroumiantseva@yandex.ru](mailto:mroumiantseva@yandex.ru)

Горизонтальный перенос генов (ГПГ) является основным источником «новых» микробных генов и механизмом быстрой эволюции микробного генома. ГПГ обеспечивает и поддерживает сохранение разнообразия микробного мира, способствуя быстрой адаптации и выживанию бактерий в различных экологических нишах. К активным элементам ГПГ следует отнести геномные острова (ГО) – протяженные последовательности, как правило, имеющие, фаговое происхождение, и содержащие разнообразные гены архей и бактерий разных фил. Вследствие этого ГО являются нередко источниками детерминант разных факторов вирулентности, а также могут включать блоки генов, детерминирующие целые метаболические пути, обуславливающие специфическую адаптацию бактерий. Наличие функционально значимых последовательностей в ГО послужило основанием к выделению их разных типов, например (а) острова патогенности; (б) острова устойчивости к антибиотикам; (в) симбиотические острова, выявленные у медленно растущих видов клубеньковых бактерий родов *Bradyrhizobium* spp. и *Mezorhizobium* spp.; (г) метаболические острова [1]. Помимо выше перечисленных, ГО выявлены также в геномах быстрорастущих видов клубеньковых бактерий, например, у представителей родов *Sinorhizobium* и *Rhizobium*, однако, отнести указанные ГО к определенному типу не представляется возможным, поскольку они могут одновременно содержать элементы, присущие разным типам островов [2]. Приведенная классификация не отражает механизмов формирования или путей эволюции ГО, которые сайт специфически интегрированы в геном хозяина. Последовательности ГО являются «горячими» областями рекомбинации, в которых происходит значительное количество различного типа перестроек. Эволюция ГО происходит, по-видимому, через мутации, внутригеномные перестройки, утрату и/или приобретение новых функционально-значимых последовательностей и мобильных элементов. Геномные острова являются факторами модульной эволюции бактерий, что обуславливает возрастающий интерес к ним биотехнологов, медиков и экологов, и существенно повышает необходимость прогнозирования и отслеживания в режиме реального времени этих ключевых областей генома в ответ на изменения условий окружающей среды.

Данная работа была выполнена при поддержке РФФ №17-16-01095.

[1]. Bertelli C. et al., 2018. Briefings in Bioinformatics, 1–14

[2]. Румянцева М.Л. и др., Геномные острова штамма *Sinorhizobium meliloti*Rm1021 – азотфиксирующего симбионта люцерны // Генетика, 2018, Т.54(7), сс. 745-756.

## ЧАСТОТА ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ И ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ У ДЕТЕЙ В Г. ЧЕЛЯБИНСКЕ

Рязанова Л.А., Алфёрова И.П.

ФГБОУ ВО «ЮУрГГПУ, Россия, Челябинск, пр. Ленина, 69; Региональная МГК, Россия, Челябинск, ул. Воровского, 15

*lryzanova@mail.ru*

В структуру болезней детского населения Челябинской области, включённых в социально-гигиенический мониторинг, входят врождённые пороки развития, деформации и хромосомные нарушения. Соотношение показателя этих болезней по Челябинской области, например, в 2016 году с аналогичным показателем в РФ (ЧО/РФ) составило 1,92. При этом в самом Челябинске, ряде других городов (Магнитогорске, Копейске, Верхнем Уфалее), а также в некоторых районах отмечено превышение среднего по области уровня индикаторной патологии [1].

Целью работы стало изучение частоты указанных выше заболеваний в период с 2012 по 2017 гг. с учётом Международной классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем [2]. В соответствии с ней выделяли врождённые аномалии и хромосомные нарушения. Количество пороков развития у детей в 2012 г. составило 15,04%, в последующие годы оно росло, в 2016 г. оказалось «рекордно» высоким – 31,33%, и только в 2017 г. снизилось до 19,55%. Частота хромосомных болезней увеличилась с 1,62% в 2012 г. до 3,81% в 2016 г. и 3,07% в 2017 г. По-прежнему актуально изучение наиболее распространённого заболевания хромосомного типа – с. Дауна, по которому отмечался рост с 1,51% в 2012 г. до 2,42 % в 2016 г., и только в 2017 г. частота этого заболевания снизилась до значения 1,84 % [3]. Среди другой хромосомной патологии отмечены с. Шерешевского-Тернера, с. Клайнфельтера, с. Эдвардса, с. Патау, с. трисомии по X-хромосоме, триплоидия, трисомия 8, а также делеции хромосом, транслокации и мозаицизм. Известно, что все показатели репродуктивной функции у жителей промышленно загрязнённых районов, хуже таковых в благополучных областях. Однако наметившееся снижение аномалий развития и хромосомной патологии в последнее время, на наш взгляд, может быть связано с активным участием населения области в решении экологических проблем региона.

[1]. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Челябинской области в 2017 году» [Электронный ресурс]: <http://74.gospotrebnadzor.ru> (дата обращения 06.11.2018).

[2]. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем. 10-й пересмотр. / ВОЗ. – Женева, 2005. – 268 с.

[3]. Рязанова Л.А., И.П. Алфёрова. Анализ хромосомной патологии у детей г. Челябинска // Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды: материалы VI международной научно-практической конференции, Челябинск, 8–9 ноября 2016 г.– Челябинск: Изд-во ЮУрГГПУ, 2016. – С. 338-342.

## ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ, КАК ЖЕСТКИЙ МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИИ К РАЗНООБРАЗИЮ УГЛЕВОДОРОДНЫХ СУБСТРАТОВ

Сазыкин И.С.<sup>1</sup>, Хмелевцова Л.Е.<sup>1</sup>, Макаренко М.С.<sup>1</sup>, Селиверстова Е.Ю.<sup>1</sup>, Сазыкина М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Россия, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1;  
[issa@sfedu.ru](mailto:issa@sfedu.ru)

Для нефтеоокисляющих микроорганизмов *Achromobacter xylosoxidans* и *Acinetobacter calcoaceticus* установлено многократное увеличение активности супероксиддисмутазы и падение активности каталазы при культивировании в присутствии углеводов. Кроме того, антиоксиданты (ионол, аскорбиновая кислота и  $\alpha$ -токоферол ацетат) частично ингибируют биодegradацию углеводов этими бактериями.

Для видов *Acinetobacter calcoaceticus*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Rhodococcus erythropolis*, *Arthrobacter aurescens*, *A. polychromogenes*, *A. sulfonivorans*, *Isoptericola* sp., *Oerskovia turbata*, *Pseudomonas putida*, *P. stutzeri*, *P. koreensis*, *P. brassicacearum* и *P. chlororaphis* зарегистрирована генерация  $O_2^-$  при инкубации с дизельным топливом, циклоалканами, ароматическими углеводородами, алканами, а также накопление  $H_2O_2$  при культивировании с дизельным топливом.

Для бактерии *R. erythropolis* была изучена экспрессия генов *CYP153*, *recA*, *sodA* и *sodC* в присутствии углеводов. Дизельное топливо усиливало транскрипцию гена *CYP153* в 8,2 раза, циклогексан – в 6 раз и нафталин в 20,7 раз соответственно. Транскрипция гена *recA* возрастала в присутствии дизельного топлива в 8,7; циклогексана – в 6,1 и нафталина в 9,8 раз. Необходимо отметить, что экспрессия *recA* обычно стабильна и используется для нормализации других генов. Дизельное топливо усиливало транскрипцию гена *sodA* в 5,4; циклогексан в 3,1; нафталин - гена *sodA* в 16,1 и гена *sodC* в 3,6 раза соответственно.

Цитохромы семейства P450, среди которых много бактериальных монооксигеназ углеводов, могли быть источником супероксид-анион радикалов, так как индукция генов *sodA* росла синхронно с индукцией генов *CYP153*. Падение активности каталазы способствует накоплению  $H_2O_2$  и окислению органических субстратов.

Усиление экспрессии гена *recA*, синхронизированное с экспрессией цитохрома *CYP153*, позволяет судить о том, что окислительный стресс, в присутствии углеводов, приводит к повреждению ДНК. Процесс репарации ДНК стимулирует рост мутагенеза и, вероятно, усиление горизонтального переноса генов.

Таким образом, окислительный стресс, индуцированный углеводородами, может служить жестким механизмом адаптации бактериальной популяции. АФК, образующиеся при этом, могут играть роль в окислении углеводов, а также ускорять эволюцию ферментов и адаптацию бактерий к многообразию углеводородных субстратов и экологических ниш.

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 17-04-00787)

## ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ *rolC* НА СОДЕРЖАНИЕ УГЛЕВОДОВ В РАСЕНИЯХ *NICOTIANA TABACUM*

Сокорнова С.В., Матвеева Т.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, 199034,  
Университетская набережная 7–9

[s.sokornova@spbu.ru](mailto:s.sokornova@spbu.ru)

Получение трансгенных линий, стабильно наследующих чужеродную ДНК, путем трансформации посредством *Agrobacterium*, широко используется в генетической инженерии растений. В тоже время в природе для нескольких видов *Nicotiana*, *Ipomoea* и *Linaria* также было показано присутствие ДНК агробактериального происхождения (Т-ДНК) в геноме растений и ее последующий перенос посредством полового размножения. Одним из наиболее консервативных генов Т-ДНК является *rol C*. Экспрессия этого гена была показана в некоторых природно-трансгенных видах *Nicotiana* и *Linaria*. Однако функция этого гена все еще не определена [1].

Чтобы исследовать функцию гена *rolC*, мы сравнили *in vitro* биохимический состав растений *Nicotiana tabacum*, отличающихся уровнем экспрессии гена.

Трансгенные растения *Nicotiana tabacum*, содержащие ген *rolC* под контролем дексаметазон-индуцируемого промотора и исходную линию культивировали в течение 7 дней на питательной среде MS, содержащей 10 мкМ дексаметазона и среде MS без индуктора [2]. Питательную среду использовали в двух модификациях с сахарозой и без добавления сахарозы. Растительный материал (отдельно побеги и корни) измельчали в жидком азоте и экстрагировали метанолом. Полученный экстракт анализировали с помощью высокоэффективной тонкослойной хроматографии и газовой хроматографии/масс-спектрометрии. Эксперимент проводили в 3-х повторностях.

Во всех исследуемых вариантах растений достоверно изменялось содержание и соотношение сахаров. Тенденция сохранялась независимо от присутствия в питательной среде сахарозы и исследуемой части растения. В случае анализа растений, выращенных на стандартной среде с сахарозой и в наземной части растений, количественное содержание сахаров было выше, чем в корнях. Доминирующими сахарами были сахароза, глюкоза и не идентифицированная производная сахарозы. Суммарное количество сахаров и соотношение глюкозы к сахарозе в трансгенных растениях *N. tabacum* на среде с индуктором были выше, чем у растений исходной линии, выращенных на среде с дексаметазоном и без индуктора, а также по сравнению с трансгенными растениями, выращенными на среде не содержащей дексаметазона. Таким образом, показано влияние гена *rolC* на углеводный обмен растений, усиление которого могло способствовать устойчивости растений к стресс-факторам и давать им дополнительные эволюционные преимущества.

[1]. Matveeva T., *Agrobacterium*-mediated transformation in the evolution of plants. // 2018, Curr. Top. Microbiol. Immunol. DOI :10.1007/82\_2018\_80

[2]. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. // 1962, Physiol. Plant. V.15, P.165–170.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ, грант 18-016-00118. Авторы благодарят РЦ СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и профессора Отгена (IBMP, France) за предоставленные трансгенные растения.

## МЕЖГЕНОМНЫЙ КОНФЛИКТ ПРИ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA* L.) И ПЛОТВЫ (*RUTILUS RUTILUS* L.)

Столбунова В.В., Павлова В.В., Кодухова Ю.В.

Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, Россия, Ярославская область,  
Борок,

[vvsto@mail.ru](mailto:vvsto@mail.ru)

Несовместимость геномов при отдаленной гибридизации проявляется в пониженной жизнеспособности или стерильности гибридного потомства, что в конечном итоге ведет к развитию репродуктивной изоляции. Конфликт между геномами, согласно классической модели Добжанского – Меллера, возникает в результате объединения в одном геноме генов, которые функционально дивергировали у двух различных видов. Однако взаимодействия между генетически отдаленными геномами не всегда бывают вредными. Так, модель Бейтсона предсказывает появление “обнадеживающих монстров”, которые приспособлены лучше, чем родительские виды. Здесь приведены результаты эксперимента, которые демонстрируют, что при гибридизации плотвы и леща формируются как непригодные, так и приспособленные бэккроссы, что показано на ядерно-ядерном и ядерно-цитоплазматическом уровнях.

По анализу расщепления ITS1 рДНК в потомстве скрещивания гибридной самки RA с самцом леща установлено снижение жизнеспособности аллоплазматических бэккроссов класса  $rAA$ , сочетающих ядерный геном *A. brama* и мтДНК *R. rutilus*, что является признаком ядерно-цитоплазматической несовместимости геномов и указывает на эндогенный отбор против носителей данного генотипа. Промежуточный гибридный морфотип, который регистрируется у бэккроссов  $rAA$ , указывает на утрату основных видовых признаков леща при включении чужеродного генетического материала и свидетельствует о том, что в направлении гибридизации самка *плотва* – самец *лещ* виды будут не способны сохранять устойчивость на фоне интрогрессивной гибридизации. Реципрокные аллоплазматические бэккроссы класса  $rRR$ , сочетающие ядерный геном *R. rutilus* и мтДНК *A. brama*, не только способны восстанавливать характеристики вида при включении чужеродной мтДНК, но обладают признаками, повышающими приспособленность особей. Они демонстрируют высокую жизнеспособность, что указывает на совместимость ядерного генома плотвы и мтДНК леща. Кроме того, от леща по материнской линии они наследуют быстрый соматический рост, от самца плотвы - меньшее число позвонков. Новая комбинация родительских признаков у бэккроссов  $rRR$  может иметь селективные преимущества перед обоими родительскими видами, у которых установлена положительная корреляция между *l* и *Vert*: крупный лещ имеет больше позвонков, чем меньшая по размеру плотва (плеомеризм). У двух особей  $rRR$  по общему числу позвонков установлен выход за предел меньшего значения *Vert*, характерного для плотвы, что, вероятно, является отрицательной трансгрессией и свидетельствует о рекомбинации у гибридов.

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ИНФИЦИРОВАНИЯ КУЛЬТУР КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА БАКТЕРИЯМИ, ПОЛУЧЕННЫМИ ИЗ ПРОБ МНОГОЛЕТНЕМЕРЗЛЫХ ГРУНТОВ СИБИРИ

Субботин А.М.

<sup>1</sup>Тюменский научный центр СО РАН, Россия, Тюмень, 625026, Тюмень, ул. Малыгина, 86, Россия.

[subbotin.prion@yandex.ru](mailto:subbotin.prion@yandex.ru)

Цель работы заключалась в оценке цитогенетических эффектов при заражении культуры лимфоцитов человека бактериями, выделенными из разных глубин мерзлых грунтов галоценового периода севера Сибири. Проведено типирование и депонирование полученных микроорганизмов: штамм *Bacillus cereus* В1Т, депонирован во Всероссийской Коллекции Промышленных Микроорганизмов (ВКПМ) ФГУПГосНИИ Генетика за № В-12242; штамм *Bacillus cereus* В3СН, депонирован во ВКПМ ФГУПГосНИИ Генетика за № В-12401; штамм *Serratia fonticola* В2СН депонирован в ВКПМ ФГУПГосНИИ Генетика.

Определяли количество микробных клеток методом предельных разведений. После определения количества клеток бактерий в исходной суспензии плотность культур доводили до рабочей концентрации в  $1,0 \cdot 10^7$  м.к./мл. Культуру Т-лимфоцитов получали от здоровых доноров традиционным методом путем культивирования при 37°C в среде RPMI с добавлением сыворотки крови теленка и фитогемагглютина. Заражение проведено через 12 ч после начала культивирования Т-лимфоцитов, после чего через 48 часов были изготовлены препараты клеток с использованием колхицина и без него.

Установлено, что увеличение числа цитогенетически дефектных клеток наблюдалось под воздействием всех изучаемых штаммов бактерий. В то же время наибольший повреждающий эффект наблюдался под влиянием *Serratia fonticola* В2СН. При этом достоверно возрастало число клеток с хроматидными и хромосомными разрывами и обменами хромосом. Повышенный уровень клеток с моносомиями отмечен при воздействии *Bacillus cereus* В1Т. Кроме этого установлено для всех изученных микроорганизмов способность усиливать бласттрансформирующий эффект с возрастанием митотической активности в зараженных культурах клеток, что сопровождается появлением таких аномалий митозов как отставание отдельных хромосом, хроматидные и хромосомные мосты, многополюсные митозы, клетки с микроядрами. Эти эффекты были наиболее четко выражены при воздействии штамма *Serratia fonticola* В2СН и *Bacillus cereus* В3СН. Наблюдается прямая корреляция между способностью инфекта стимулировать митотическую активность и его цитогенетическим эффектом.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАРКОДИНГА И МЕТАБАРКОДИНГА ДНК ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ХОЗЯЙСТВЕННО ЗНАЧИМЫХ НАСЕКОМЫХ И КЛЕЩЕЙ

Сыромятников М.Ю., Кокина А.В., Попов В.Н.

Воронежский государственный университет, Россия, г. Воронеж, 394018,

[syromyatnikov@bio.vsu.ru](mailto:syromyatnikov@bio.vsu.ru)

Баркодинг ДНК – это метод идентификации таксона организма на основе секвенирования маркерных генов. Метабаркодинг – разновидность метода высокопроизводительного секвенирования при котором одновременно проводится баркодинг ДНК смесей организмов. Целью данной работы явилась разработка молекулярно-генетических методов идентификации трудно дифференцируемых насекомых-вредителей найденных на культурных растениях, опылителей и энтомофагов на основе метода баркодинга ДНК, а также разработка системы идентификации смесей насекомых и клещей на основе метабаркодинга ДНК для быстрой оценки их видового разнообразия на определенной территории.

В качестве объектов исследования использовались хозяйственно значимые насекомые и клещи, которые предварительно были идентифицированы энтомологически. Выделение ДНК проводили с помощью коммерческого набора ZR Tissue&Insect DNA. Амплифицировали маркерные гены различных таксонов организмов с использованием универсальных праймеров mHemF, LepF1, LepR1, LCO1490 и HCO2100. Секвенирование по Сенгеру проводили на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500. Высокопроизводительное секвенирование проводилось на платформе IonTorrent PGM.

Нами были собраны важнейшие вредители сельского и лесного хозяйства. Морфологически, до вида идентифицирован 181 вредитель. Был проведен баркодинг ДНК. Секвенированную последовательность аннотировали и регистрировали в системе Genbank. Примечательно, что для ряда вредителей: *Anoxia pilosa*, *Anisoplia austriaca*, *Centrotus cornutus*, *Hoplia parvula*, *Eurygaster integriceps*, *Eurygaster dillaticolis* баркодинг ДНК осуществлен впервые. Проведен баркодинг ДНК шмелей, пчел и энтомофагов, используемых для биологической защиты растений от вредителей (*Amblyseius* sp., *Cheilomenes* sp., *Orius* sp., *Phytoseiulus persimilis* и т.д.). Создана уникальная электронная база баркодинга ДНК хозяйственно значимых насекомых и клещей на ресурсе <http://genbank.vsu.ru/>. Разработана схема проведения метабаркодинга ДНК сообществ насекомых на платформе Ion torrent PGM с разработанной нами панели праймеров. Несмотря на то, что 13 видов насекомых идентифицировать до вида с помощью баркодинга ДНК оказалось невозможно, в целом, можно прийти к выводу, что данный метод имеет высокий потенциал для его применения в рутинной идентификации насекомых и клещей в хозяйственной деятельности человека.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-14-00176

## МОНИТОРИНГ ПРОДУЦЕНТОВ ФИКОТОКСИНОВ В ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЯХ РФ: МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД

Орлова Т.Ю.<sup>1\*</sup> Ефимова К. В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Национальный научный центр морской биологии (ННЦМБ) им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041;

<sup>2</sup>Дальневосточный Федеральный Университет, Владивосток 690950  
torlova06@mail.ru

В рамках многолетнего мониторинга вредоносного цветения микроводорослей (вцв) на акватории дальневосточных морей проведена молекулярная идентификация микроорганизмов, известных как продуценты фикотоксинов: домоевой кислоты (амнезийный токсин, продуцируемый диатомовыми водорослями рода *Pseudo-nitzschia*), нейротоксинов (динофлагелляты рода *Alexandrium*), окадаевой кислоты и ее аналогов (диарейные токсины, продуцируемые динофлагеллятами родов *Dinophysis* и *Prorocentrum*) а также исследованы продуценты палитоксинов (динофлагелляты рода *Ostreopsis*). Генотипированы потенциально-токсичные организмы, вызывающие цветение воды, сопровождающееся массовой гибелью рыб и беспозвоночных - примнезиевые и рафидофитовые водоросли родов *Chattonella* и *Heterosigma*, а также цианобактерии, продуцирующие микроцистины. С помощью молекулярно-генетических методов выявлены и описаны новые для науки и морей России виды потенциально опасных микроводорослей. Полученные данные могут быть использованы для оптимизации мониторинга вцв на акватории дальневосточных морей в целях обеспечения токсикологической безопасности населения, предупреждения экономического ущерба и обеспечения гарантированного рынка сбыта и конкурентоспособности производимых в регионе морепродуктов. Данная работа была поддержана грантом рффи 17-04-0139 и программой «приоритетных научных исследований в интересах комплексного развития Дальневосточного отделения РАН» проект 18-5-074.

## РАЗРАБОТКА НОВОГО МЕТОДА МОНИТОРИНГА НЕСТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА В ОТВЕТ НА ХИМИЧЕСКИЙ СТРЕСС

Лавренев А.Р.<sup>1,2</sup>, Румак В.С.<sup>1,2</sup>, Левенкова Е.С.<sup>1,2</sup>, Попов В.С.<sup>3</sup>, Малыгин В.М.<sup>2</sup>,  
Умнова Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Россия, 119071, Москва, Ленинский пр., 33; <sup>2</sup> биологический факультет МГУ, Россия, Москва, Ленинские горы, 1; <sup>3</sup> факультет фундаментальной медицины МГУ, Россия  
[overtaki@mail.ru](mailto:overtaki@mail.ru); [unv2014@mail.ru](mailto:unv2014@mail.ru)

Большинство экологических стрессоров, включая экотоксиканты и тяжелые металлы, вызывают транспозицию мобильных генетических элементов (МГЭ), таких как транспозоны LINE1 и ERV/LTR, что приводит к нестабильности генома и развитию различных патологий. Потенциально МГЭ могут быть использованы в качестве эффективных биомаркеров модификаций генома, вызванных воздействием химических стрессовых факторов. Транспозоны ERV-L присутствуют у большинства плацентарных животных. Поэтому мы выбрали их в качестве биомаркеров вероятных нарушений стабильности генома мелких млекопитающих, живущих вблизи свалки Саларьево с многолетними накоплениями твердых бытовых и промышленных отходов и известными уровнями диоксинов и диоксиноподобных соединений в почве прилегающих территорий. Ранее среди животных, пойманных в окрестных лесах и водоемах, наблюдали фрагментацию ядерного материала и нарушения морфогенеза [1].

Подобраны универсальные праймеры к высококонсервативному домену обратной транскриптазы (RT) открытой рамки *pol* ретротранспозонов ERV-L. Мы использовали эти праймеры для оценки уровня транскрипции и количества копий ретротранспозонов в геноме 3 видов мелких млекопитающих (рыжие полевки, малые лесные мыши и обыкновенные бурозубки).

Результаты первичных молекулярно-генетических тестов показали, что в геноме грызунов, пойманных возле свалки, количество копий ретротранспозонов ERV-L меньше, чем в местах условного контроля (Звенигородская биологическая станция, МГУ). Копии ERV-L в образцах ДНК печени обыкновенных бурозубок, вероятно, претерпели сильные изменения в нуклеотидном составе, из-за чего их пришлось исключить из анализа. Анализ уровней транскрипции не выявил отличий состояния активности ретротранспозонов между образцами, полученными от экспонированных животных и животных условного контроля.

Для получения обоснованного экспертного заключения об участии МГЭ в становлении адаптационного потенциала экспонированных диоксинами животных необходимо проверить и повторить эти эксперименты расширив их планируемым анализом статуса ДНК-метилирования у таких животных. Это позволит охарактеризовать особенности нестабильности их генома и риски, связанные с воздействием суперэкоксикантов в среде обитания.

1 Румак В.С., Умнова Н.В., Левенкова Е.С., Турбабина К.А., Пивоваров Е.А., Шелепчиков А.А., Павлов С.Д. Диоксины в среде и организме животных вблизи полигона отходов производства и потребления: к методологии оценки риска для здоровья населения // 2017, Экология человека. № 10. С. 9–15.

## СВЕРХЭКСПРЕССИЯ ИЗОФОРМЫ В ГЕНА *Dgp-1* ОБЕСПЕЧИВАЕТ ВЫСОКИЙ УРОВЕНЬ ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ САМЦОВ ДРОЗОФИЛЫ ПРИ СТАРЕНИИ И ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ

Федотов С.А.<sup>1,2</sup>, Беседина Н.Г.<sup>1</sup>, Брагина Ю.В.<sup>1</sup>, Даниленкова Л.В.<sup>1</sup>, Камышева Е.А.<sup>1</sup>, Камышев Н.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7–9  
[serg900@yandex.ru](mailto:serg900@yandex.ru)

Ген *Dgp-1* является важным фактором регуляции локомоторной активности *Drosophila melanogaster* [1], экспрессия которого усиливается в условиях гипероксии [2]. Ортолог *Dgp-1* у млекопитающих, ген *GTPBP1*, регулирует деградацию мРНК гена циркадного ритма *Aanat* и гена цитокина *TNF-α* [3]. Для изучения вовлеченности *Dgp-1* в нервные процессы у мух при старении и действии стресса мы изучили продолжительность жизни и динамику локомоторных параметров у самцов дрозофилы со сверхэкспрессией изоформы В гена *Dgp-1*. Повсеместная и нейроспецифичная сверхэкспрессия изоформы В вызывает устойчивое увеличение количества побегов при тестировании трехсуточных самцов при повышенной температуре, а также у стареющих мух при нормальной температуре. У R-инсерционных мутантов дрозофилы с увеличенной экспрессией изоформы В и сниженной экспрессией изоформы А гена *Dgp-1* также было выявлено усиление локомоторной активности при стрессе и старении, а кроме того существенное снижение продолжительности жизни. Прекращение выравнивания генетического фона мутантов не влияло на локомоторные эффекты мутации, но приводило к увеличению продолжительности жизни, превышающую таковую у линии дикого типа Canton-S. Оценка оксидативного стресса в гомогенизированных тканях мутантов показала сниженный уровень активных форм кислорода при действии теплового шока и содержании на среде с 2% перекисью водорода. Наши данные демонстрируют, что сверхэкспрессия изоформы В гена *Dgp-1* препятствует нейрональной регуляции локомоторной активности в условиях усиления оксидативного стресса при высокой температуре и при старении. Вероятной причиной этих нарушений могут являться изменения в стрессорном ответе при сверхэкспрессии изоформы В. Кроме того, сверхэкспрессия изоформы В, по-видимому, запускает процесс адаптации механизмов защиты против стресса, что проявляется в увеличении продолжительности жизни у *Dgp-1* мутантов в ряду поколений. Изучение молекулярных основ этой адаптации может дать информацию о факторах защиты организма от стресса и старения.

[1] Fedotov S.A., Bragina J.V., Besedina N.G., Danilenkova L.V., Kamysheva E.A., Panova, A.A., Kamyshev, N.G. The effect of neurospecific knockdown of candidate genes for locomotor behavior and sound production in *Drosophila melanogaster* // 2014, Fly, V.8, P.176-187.

[2] Gruenewald C., Botella J.A., Bayersdorfer F., Navarro J.A., Schnewly S. Hyperoxia-induced neurodegeneration as a tool to identify neuroprotective genes in *Drosophila melanogaster* // 2009, Free Radic Biol Med., V.46(12), P.1668-1676.

[3] Woo K.C., Kim T.D., Lee K.H., Kim D.Y., Kim S., Lee H.R., Kang H.J., Chung S.J., Senju S., Nishimura Y., Kim K.T. Modulation of exosome-mediated mRNA turnover by interaction of GTP-binding protein 1 (GTPBP1) with its target mRNAs // 2011, FASEB Journal, V.25(8), P. 2757-2769

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013-2020 годы (ГП-14, раздел 63) и программы кадровой поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых СПбГУ (грант постдока, научная лаборатория биологии амилоидов, проект Трансляционная биомедицина в СПбГУ).

## ВЫЯВЛЕНИЕ ГРУПП РИСКА ФОРМИРОВАНИЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Целоусова О.С.<sup>1</sup>, Овсянникова Л. Б.<sup>1</sup>, Гималетдинов Э.Г.<sup>2</sup>, Викторова Т.В.<sup>1</sup>

*1* ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, г. Уфа, ул. Ленина 3, Россия; *2* Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Башкортостан, г. Уфа, ул. Р.Зорге, 58., Россия  
[olga.tselousova@gmail.com](mailto:olga.tselousova@gmail.com)

Республика Башкортостан – крупный нефтехимический промышленный регион, с высоким уровнем антропогенного загрязнения окружающей среды. Актуальным вопросом профилактической медицины является оценка здоровья населения в связи с неблагоприятными эколого-гигиеническими условиями среды обитания. Для изучения влияния загрязнения окружающей среды на организм человека и оценки риска здоровью населения, нами проведен расширенный кариологический анализ буккального эпителия у 384 относительно здоровых жителей Республики Башкортостан среднего возраста  $18,54 \pm 1,07$  [1]. Для оценки уровня цитогенетических нарушений от каждого индивида было проанализировано 1000 буккальных эпителиоцитов. Нами учитывались цитогенетические показатели (частота клеток с микроядрами  $1,00 \pm 1,22$ , протрузиями  $0,42 \pm 0,91$ , ядерными мостами  $0,22 \pm 0,63$  и ядром атипичной формы  $7,09 \pm 11,68$ ); показатели клеточной пролиферации (частота клеток с двумя  $1,47 \pm 1,86$ , тремя и более ядрами  $0,18 \pm 0,92$  и сдвоенными ядрами  $0,86 \pm 1,67$ ); показатели ранней деструкции ядра (частота клеток с вакуолизацией ядра  $221,53 \pm 43,41$ , конденсацией хроматина и началом кариолизиса  $199,73 \pm 58,72$ ); показатели поздней деструкции ядра (частота клеток с кариорексисом  $2,61 \pm 5,83$ , кариопикнозом  $6,87 \pm 9,95$ , с полным кариолизисом  $13,35 \pm 20,40$ ). Эколого-генетический риск здоровью населения определялся на основе анализа индекса накопления цитогенетических нарушений (Iac), учитывающего все показатели клеточной кинетики [2]. При снижении апоптотической активности клеток Iac увеличивается. У большей части обследованных лиц 68,23% (n=262) выявлен низкий риск развития цитогенетических нарушений. Приблизительно со сходной частотой у обследованных индивидов выявлялся высокий риск 16,92% (n=65) и умеренный риск формирования цитогенетических нарушений 14,84% (n=57). Анализ риска цитогенетических нарушений позволяет выделить группы населения для включения в социально-гигиенический мониторинг для оценки безопасности среды обитания и разработки профилактических мероприятий, так как длительное воздействие антропогенных факторов окружающей среды на организм человека, может являться причиной срыва адаптационных механизмов организма и развития патологических состояний.

[1]. Волкова А.Т., Целоусова О.С., Потапова И.А. Цитогенетический мониторинг риска воздействия окружающей среды на здоровье жителей Республики Башкортостан // 2014, Анализ риска здоровью., №3., С. 56-60.

[2]. Сычева Л. П. Цитогенетический мониторинг для оценки безопасности среды обитания человека // 2012, Гигиена и санитария., №6., С. 68-72.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СТАТУС БИОИНДИКАТОРОВ, ОБИТАЮЩИХ ВБЛИЗИ МЕСТ ХРАНЕНИЯ ЗАПАСОВ УСТАРЕВШИХ ПЕСТИЦИДОВ

Чередниченко О.Г., Магда И.Н., Пилюгина А.Л., Нуралиев С.К., Байгушикова Г.М.,  
Бекманов Б.О.

РГП «Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК,  
Республика Казахстан, г. Алматы, пр. аль-Фараби, 93,  
[cherogen70@mail.ru](mailto:cherogen70@mail.ru)

Для выявления мутагенного воздействия пестицидов на живые организмы в качестве биоиндикаторов использовали цитогенетические характеристики периферической крови амфибий (*R. ridibunda*), рыб сем. *Cyprinidae* и мышевидных грызунов (микроядерный и comet-test), обитающих вблизи мест складирования запрещенных и не утилизируемых пестицидов (п. Бескайнар (43°13'16.36N:77°06'49.78E), п. Кызылкайрат (43°17'58.78N:77°11'40.21E)) и около сельхозугодий, где их применяли в прошлом (п. Таукаратурык (43°29'52.75N:78°01'06.44E)). В качестве контроля выбран регион, в котором пестициды не применяли.

При цитогенетическом анализе амфибий и рыб встречались микроядра (МЯ) и цитологические нарушения (амитоз, хвост, вакуолизация, двуядерные клетки, инвагинация цитоплазмы и ядра, безъядерные эритроциты), у мышевидных грызунов - МЯ и нестандартные эритроциты.

У амфибий и рыб выловленных вблизи мест складирования не утилизируемых пестицидов наблюдается достоверно повышенный уровень ( $p \leq 0,001$ ) частоты эритроцитов с МЯ (0,44 и 0,043% соответственно). Аналогичная ситуация наблюдается и в п. Таукаратурык (0,32 и 0,021%). В контрольном регионе (0,19 и 0,027%). При цитогенетическом анализе мышевидных грызунов наибольшая частота МЯ в эритроцитах выявлена в п. Кызылкайрат - 0,14% и п. Бескайнар - 0,9%; в п. Таукаратурык - 0,054%, в контроле - 0,025%.

Анализ степени спонтанного уровня поврежденности ДНК в лимфоцитах мониторинговых животных методом comet-test выявил, что у рыб  $I_{\text{ДНК}}$  в обследованных поселках находится практически на одном уровне (0,77-0,93). У амфибий отловленных в п. Бескайнар  $I_{\text{ДНК}}$  в два раза выше (0,73), чем у животных из п. Таукаратурык (1,48), что вероятно связано с большей оседлостью амфибий.  $I_{\text{ДНК}}$  у мышевидных грызунов по поселкам также принципиально не отличается (2,74-3,11), в контроле - 0,91. Показателем генотоксического действия является индекс повреждения (ИП), который вычисляется по формуле:  $\text{ИП} = I_{\text{ДНК}} \text{опыт} / I_{\text{ДНК}} \text{контроль}$ .  $\text{ИП} \geq 2,0$ , указывает на то, что проявляется генотоксический эффект, т.е. судя по полученным результатам генотоксический эффект у мышевидных грызунов наблюдается во всех исследованных поселках.

Таким образом, анализ генетического статуса биоиндикаторов показывает общий повышенный уровень частоты эритроцитов с микроядрами и поврежденности генома лимфоцитов в comet-test по сравнению с контролем, не только вблизи мест складирования не утилизируемых пестицидов, но и там где они применялись более 20 лет назад.

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках НТП №BR05236379.

## ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ДОЗ РАДИАЦИИ НА РЕГУЛИРОВАНИЕ P53- и NFκB-СИСТЕМ КЛЕТОЧНОГО ГОМЕОСТАЗА НЕКОДИРУЮЩИМИ РНК В ЛИМФОЦИТАХ И Т-ЛИМФОБЛАСТОИДНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Шуленина Л.В.<sup>1</sup>, Раева Н.Ф.<sup>1</sup>, Салеева Д.В.<sup>1</sup>, Незнанова М.В.<sup>1</sup>, Михайлов В.Ф.<sup>1</sup>, Засухина Г.Д.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, 123098, Маршала Новикова, д. 23

<sup>2</sup>ФГБУН Институт общей генетики им.Н.И.Вавилова РАН, Москва, 117971, ул.Губкина, д.3. [shuleniina2010@mail.ru](mailto:shuleniina2010@mail.ru)

Известно, что индивидуальный риск развития заболевания человека зависит от генетических особенностей и воздействия неблагоприятных факторов среды. Становление геномики и биоинформатики привело к идентификации большого количества некодирующих РНК, к которым относятся микроРНК (miR), длинные некодирующие РНК (днРНК) и др., раскрывающие молекулярные механизмы воздействия экологических факторов, например, радиации, на состояние генов. Использование современных диагностических методов в виде компьютерной томографии (КТ), позитронно-эмиссионной томографии или флюороскопии могут повышать риск развития рака из-за воздействия низких доз радиации (от 5 до 100 мГр). Многими авторами показано увеличение кумулятивного риска появления лейкемии и опухолей головного мозга у детей после КТ и его зависимость от числа радиационных процедур.

В настоящее время необходимы не только популяционные исследования участия регуляторных РНК в реализации действия неблагоприятных факторов, но и эксперименты на клеточном уровне, позволяющие определить причинность и механизмы реакции человека на изменения окружающей среды.

Нами исследована экспрессия miR, днРНК, а также мРНК генов, принадлежащих к P53- и NFκB - системам клеточного гомеостаза, после воздействия малой дозы (0,1 Гр) рентгеновского излучения на лимфоциты и клетки линии Jurkat методом ПЦР в реальном времени. Установлено, что через 1 ч после облучения в лимфоцитах активируется P53-зависимая система защиты стабильности генома: увеличивалась экспрессия P53 и дн РНК Gas5, RoR, MALAT1, снижалось содержание зрелых miR-27a и miR-181a. В то же время снижалась экспрессия гена NFκB (p65) и его генов-мишеней: RhoA, Cdc42, IL-6. Через 4 ч после облучения показатели возвращались к нормальным значениям.

В клетках Jurkat с мутантным геном P53 наблюдалась противоположная картина: через 1ч после воздействия 0,1 Гр увеличивалась экспрессия NFκB(p65), снижалось содержание miR-107 и miR-181a, а экспрессия гена P53 не изменялась.

Таким образом, обнаружено, что в лимфоцитах после воздействия малых доз радиации включалась программа сохранения стабильности генома, в то время как в опухолевых клетках линии Jurkat активировался NFκB - путь, направленный на выживание и пролиферацию клеток с мутантной ДНК.

Дальнейшие исследования в этом направлении помогут выявить некодирующие РНК либо как самостоятельные диагностические маркеры, либо зависимыми от состояния P53 и NFκB.

Благодарности: Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-03-00013

## Симпозиумы III, XVIII: Биоинформатика и системная биология / Symposia III, XVIII: Bioinformatics and Systems Biology

### БАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГИБРИДНЫХ ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ С ВКЛЮЧЕННЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА (I) МЕДИ

Белоусова М.Е.<sup>1</sup>, Евдокимова О.Л.<sup>2</sup>, Нижников А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБГНУ ВНИИСХМ, Россия, Санкт-Петербург, Подбельского 3;

<sup>2</sup>Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН, Россия, г. Иваново  
[m.belousova@arriam.ru](mailto:m.belousova@arriam.ru)

С увеличением устойчивости микроорганизмов к различным антимикробным средствам возрастает необходимость в поиске новых технологичных соединений, способных подавлять рост и развитие патогенной микрофлоры. Разработка новых антибактериальных агентов является одним из приоритетных и перспективных направлений в борьбе с антибиотической устойчивостью и нерациональным использованием антибиотиков. В настоящее время особое внимание уделяется наночастицам оксидов металлов, которые могут подавлять развитие бактерий, выработавших устойчивость к антибиотическим препаратам. Применение целлюлозы в качестве биоматрицы в сочетании с наночастицами оксидов металлов открывает возможности создания материалов, обладающих новыми, не присущими целлюлозе свойствами, такими как бактерицидные, магнитные и каталитические.

В нашем исследовании была проведена оценка антимикробного действия гибридных пленок на основе наноцеллюлозы с включенными наночастицами оксида меди (I) в отношении грамположительных бактерий *Bacillus cereus* ATCC 4342, *B. thuringiensis* subsp. *israelensis*, и грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* DH5 alpha. Для получения наноразмерной целлюлозы был применен метод, основанный на использовании раствора медноаммиачного комплекса целлюлозы с последующей регенерацией посредством кислотного гидролиза. Наночастицы  $\text{Cu}_2\text{O}$  были синтезированы с помощью микроволнового излучения с применением сульфата меди в качестве предшественника. Для исследования антимикробной активности бактериальные суспензии (100 мкл,  $10^5$  КОЕ/мл) равномерно распределяли на поверхности твердой среды Luria-Bertani, тестируемые пленки помещали сверху. В качестве контроля использовали пленки без наночастиц  $\text{Cu}_2\text{O}$ . Замер зоны ингибирования (от края пленки до края зоны, свободной от бактерий) проводили через 12 часов инкубации при 30 °С. Согласно полученным данным, тестируемые гибридные пленки с наночастицами оксида меди проявляли умеренную антибактериальную активность, выраженную в ингибировании роста бактерий. Ширина зоны ингибирования составляла  $1,76 \pm 0,19$  мм и  $1,75 \pm 0,12$  мм для грамположительных *B. cereus* и *B. thuringiensis* и  $1,54 \pm 0,22$  мм грамотрицательных бактерий *E. coli*, соответственно.

Таким образом, гибридные пленки на основе наноцеллюлозы и наночастиц оксида меди (I) обладают антибактериальной активностью и могут быть потенциально полезны для использования в борьбе с патогенными бактериями.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ, Проект № 18-33-00807.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ В КОНТРОЛЬНЫХ И СТРЕССОВЫХ УСЛОВИЯХ

Бобровских А. В.<sup>1,2</sup>, Колодкин А. Н.<sup>3,4</sup>, Дорошков А. В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10;

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, Пирогова, 2;

<sup>3</sup> Амстердамский свободный университет, Нидерланды, Амстердам, De Boelelaan 1105, 1081 HV Amsterdam;

<sup>4</sup> Университет Люксембурга, Люксембург, Люксембургский центр системной биомедицины, 6, Avenue du Swing

[avb@bionet.nsc.ru](mailto:avb@bionet.nsc.ru)

В ходе метаболических процессов в растительной клетке происходит генерация радикалов, значительную часть которых составляют активные формы кислорода (АФК). В стрессовом состоянии продукция АФК многократно усиливается, что приводит к окислительному стрессу и снижает жизнеспособность растений.

Для борьбы с АФК у растений существует антиоксидантная система (АОС). Её составляют ферменты нескольких классов, часть которых непосредственно нейтрализует радикалы (аскорбатпероксидаза, глутатионпероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза), а другая часть восстанавливает окисленные формы антиоксидантов (глутатионредуктаза, дегидроаскорбатредуктаза, монодегидроаскорбатредуктаза). Система функционирует путем реакций окисления и восстановления антиоксидантов.

Изучение особенностей регуляции и динамики АОС является перспективным как с фундаментальной точки зрения (получение знаний о регуляции сложноорганизованной биохимической системы), так и с прикладной (увеличение продуктивности сельскохозяйственных культур в районах с неблагоприятным и изменчивым климатом). Авторами была показана сложность и генетическая избыточность системы, изучен характер эволюции ряда ферментов и особенности экспрессии отдельных копий генов [1].

Существуют модели, которые описывают динамику АОС растений. Например, модель [2], которая описывает поведение системы в зависимости от разных потоков электронов через фотосистему и учитывает особенности кинетических механизмов реакций. Однако, в данной модели представлен неполный набор ферментов и система ограничена одним компартментом, не описан ответ системы на стресс.

В настоящей работе описана динамика антиоксидантной системы в разных клеточных компартментах (хлоропласты, митохондрии, пероксисомы) в нормальных и стрессовых условиях. Для этого применены интеграционные подходы системной биологии: проанализирован массив доступных данных по измерению тотальной активности ферментов, соотнесены основные источники радикалов в клетке и скорости их генерации. Проведен анализ данных по транскрипционной регуляции антиоксидантных генов в контрольных и стрессовых условиях. Модель разработана в среде COPASI [3] с описанием соответствующих биохимических реакций в терминах ОДУ с учетом кинетических особенностей ферментов соответствующих классов. Получены стационарные решения для потоковых моделей отдельных компартментов в контрольных и стрессовых условиях.

## ПОИСК БИОМАРКЕРОВ ПОВЫШЕННОГО АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА РАСТЕНИЙ ГУАРА (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) НА ОСНОВЕ МЕТАБОЛОМНОГО АНАЛИЗА

Теплякова С.Б.<sup>1</sup>, Шаварда А.Л.<sup>2,3</sup>, Потокина Е.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, 190000; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, 199034; <sup>3</sup>ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН), Россия Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2, 197376

[serafima.teplyakova@mail.ru](mailto:serafima.teplyakova@mail.ru)

Гуар – тропическое растение, являющееся источником гуаровой камеди, которая используется во многих отраслях промышленности. Данная культура недавно интродуцирована на территорию РФ, и возделывание сортов индийской и американской селекции в условиях юга России не всегда является успешным.

Процесс интродукции можно ускорить с использованием «омиксных» технологий, в частности, метаболомного анализа. С его помощью стало возможным изучать реакцию организма на воздействие окружающей среды, которая выражается во множественных изменениях концентраций различных метаболитов с целью поддержания гомеостаза. Поиск биомаркеров, которые могли бы служить индикаторами физиологического состояния растений гуара, может быть полезным для целей повышения эффективности процесса интродукции этой тропической культуры на территорию РФ.

В проведенном исследовании была осуществлена серия экспериментов по выявлению и анализу метаболических профилей 96 генотипов гуара разного географического происхождения мировой коллекции ВИР, выращенных в крайне стрессовых для этой культуры условиях длинного светового дня, характерного для летних месяцев северных широт (Пушкинский филиал ВИР, Санкт-Петербург). В результате эксперимента у растений гуара были выявлены метаболиты, пониженная концентрация которых уже на стадии третьего настоящего листа сигнализировала о приближающейся гибели растения, в то время как внешний вид растения не позволял сомневаться в его благополучии.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-29-08027- офи-м с использованием оборудования Ресурсного центра Научного парка СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

## ПРИМЕНЕНИЕ МНОЖЕСТВЕННЫХ ФОРМ ФЕРМЕНТОВ СОИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Иваченко Л.Е.<sup>1,2</sup>, Лаврентьева С.И.<sup>1,2</sup>, Синеговская В.Т.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Благовещенский государственный педагогический университет, Россия, 675000, Благовещенск; Ленина 104;

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сои  
[ivachenko-rog@yandex.ru](mailto:ivachenko-rog@yandex.ru)

В настоящее время решается задача создания новых сортов сои, обладающих устойчивостью к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды. Амурская область является идеальным регионом для производства сои, так как имеет соответствующие агроклиматические условия, где находится северный ареал дикорастущей сои, обладающей высоким адаптивным потенциалом.

Ведущую роль в поддержании внутриклеточного гомеостаза и адаптации растений к стрессорам играют ферменты. Белки-ферменты – это результат экспрессии генов. Многие ферменты функционируют в виде множественных форм. По уровню изменения множественных форм ферментов можно глубже понять функционирование биологических систем в ответ на разнообразные воздействия факторов среды.

Цель работы – выявить и оценить встречаемость множественных форм каталаз, пероксидаз, эстераз, амилаз и кислых фосфатаз семян районированных в Амурской области сортов сои и коллекции семян дикорастущей сои коллекции ФГБНУ ВНИИ сои в зависимости от погодных условий выращивания.

В ходе исследований нами впервые установлено, что дикорастущая соя, обладающая высоким адаптивным потенциалом, характеризуется повышенной удельной активностью и небольшим числом форм исследованных ферментов. Невысокая удельная активность ферментов культурной сои, вероятно, компенсируется увеличением числа их форм, что повышает устойчивость сои в различных условиях выращивания. Анализ энзимограмм семян сои позволил установить восемь форм каталаз, восемнадцать форм пероксидаз, десять форм амилаз, четырнадцать форм эстераз и тринадцать форм кислых фосфатаз и их гетерогенность в зависимости от погодных условий выращивания.

Для дикорастущей сои идентифицированы только две формы ферментов (пероксидаза П7 и кислая фосфатаза КФ13), которые встречались при любых условиях выращивания. Интересно, что при высокой и низкой температурах были обнаружены формы каталазы К1 и эстеразы Э3, при засухе и низкой температуре – формы амилаз А3 и А2. У культурной сои эти же формы были зафиксированы при любых условиях возделывания. Вероятно, они являются «базовыми» генетически детерминированными формами соответствующих ферментов, тогда как остальные формы, возможно, возникали в результате экспрессии генов в ответ на условия выращивания.

Впервые обосновано и экспериментально развито перспективное для селекции сои направление о роли ферментов в процессе адаптации. Выявлено, что электрофоретические спектры ферментов семян сои можно использовать в качестве маркеров для создания адаптивных сортов сои.

## ПОИСК НОВЫХ ГЕНОВ В «СКРЫТОЙ» ЧАСТИ ТРАНСКРИПТОМОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Генаев М.А.<sup>1</sup>, Шмаков Н.А.<sup>1</sup>, Мустафин З.С.<sup>1</sup>, А.М. Мухин<sup>1,2</sup>, Д.К. Константинов<sup>1,2</sup>,  
А.В. Дорошков<sup>1,2</sup>, С.А. Лашин<sup>1,2</sup>, Афонников Д.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральный Исследовательский Центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева 10; <sup>2</sup>Новосибирский Государственный Исследовательский Университет, Россия, Новосибирск, Пирогова 1  
[mag@bionet.nsc.ru](mailto:mag@bionet.nsc.ru)

Анализ транскриптомов сельскохозяйственных культур на основе экспериментов RNA-seq является одним из эффективных направлений поиска генов, связанных с такими признаками как устойчивость к вредителям и факторам среды. Однако большинство результатов RNA-seq представляют собой анализ экспрессии генов на основе картирования прочтений на референсный геном. Мы предположили, что новые гены в геномах культурных растений могут быть обнаружены на основе идентификации транскриптов которые (а) не выравниваются на референсный геном либо (б) выравниваются на ранее неаннотированные геномные локусы. Чтобы оценить долю таких новых генов в геномах пяти сельскохозяйственных культур (кукуруза, рис, томат, картофель и ячмень) проведен массовый анализ транскриптомов, взятых из доступных SRA архивов ENA (всего 1300 библиотек).

Для каждого транскриптома проведена реконструкция последовательностей *de novo*, и на основе выравнивания определены транскрипты, которые не имеют сходства с референсным геномом (новые транскрипты) или выравниваются в ранее неаннотированные его локусы (неаннотированные транскрипты). Оказалось, что для 5 организмов в среднем доля выровненных транскриптов, составила в среднем 96% от их общего числа. Доля последовательностей, которые выровнялись на геном, но не попали на аннотированные локусы, составляет 20-25% от всех транскриптов, а доля невыровненных последовательностей составляет до 5%.

Сравнение полученных транскриптов с последовательностями из специализированных баз данных аннотаций нуклеотидных последовательностей показало, что контаминация векторными последовательностями незначительна (в среднем около 20 транскриптов на каждый транскриптом). В то же время среди невыровненных последовательностей нами были обнаружены последовательности, имеющие высокий уровень сходства с вирусами и другими патогенами растений, последовательностями некодирующих РНК растений, рибосомных РНК, повторов.

Нами также были идентифицированы последовательности возможных генов устойчивости к патогенам: для 181 новых транскриптов и 1707 неаннотированных транскриптов было предсказано наличие полного набора доменов, характерных для таких генов (NBS-LRR доменов).

Полученные результаты демонстрируют, что предложенная стратегия поиска новых генов в транскриптомах растений является продуктивной.

**Благодарности:** Работа поддержана грантом РФФ 18-14-00293.

## РОЛЬ РНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА *Dm NXF1* (NUCLEAR EXPORT FACTOR 1) В МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Голубкова Е.В., Гинанова В.Р., Якимова А.О., Кливер С.Ф., Пасынков А.И., Мамон Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9  
[e.golubkova@spbu.ru](mailto:e.golubkova@spbu.ru)

Эволюционно консервативный РНК-связывающий белок NXF1 (Nuclear eXport Factor 1) присутствует у всех представителей *Opisthokonta*. Его основная функция – обеспечение экспорта большинства мРНК из ядра в цитоплазму. Опираясь на наши данные, мы можем утверждать, что это не единственная функция данного белка. Его участие в метаболизме мРНК не ограничивается этапом ядерного экспорта. У *Drosophila melanogaster* ген *Dm nxf1* имеет еще одно название – *small bristles* (*sbr*), по фенотипу первой мутантной аллели, а именно – нарушение формирования сенсорных органов у мутанта *sbr<sup>1</sup>*. Серия мутантных аллелей гена *sbr* (*Dm nxf1*) с характерными аллеле-специфичными фенотипами у *Drosophila melanogaster* предоставляет уникальную возможность исследовать неканонические функции гена *Dm nxf1*. Влияние мутаций по гену *sbr* (*Dm nxf1*) на расхождение хромосом в мейозе и митозе, форму веретена первого деления мейоза у самок, цитокинез в раннем сперматогенезе и формирование подвижных сперматозоидов, позволили предположить значение этого гена для формирования цитоскелета. Среди фенотипических проявлений мутантных аллелей гена *sbr* особое место занимают различные врожденные аномалии развития. Спектр морфологических аномалий очень широк – это и отсутствия частей тела, и деформации, и трансформации разных органов и структур тела насекомого. Подобные аномалии развития мы объясняем нарушениями морфогенетических движений клеток у мутантов по гену *sbr* (*Dm nxf1*). Кроме того, нами были отмечены аномалии зрительных долей мозга у самцов, несущих одну из мутантных аллелей гена *sbr* (*Dm nxf1*). Медулла у этих самцов проявляет дефекты, как формы нейропиля, так и характера расположения тел нервных клеток. Формирование мозга у дрозофилы – сложный динамичный процесс и значительную роль в этом процессе играет миграция клеток и прорастание отростков нейронов к своим мишеням. Неслучайная локализация в цитоплазме различных клеток дрозофилы белка NXF1 может свидетельствовать о его специализации в отношении определенных долгоживущих мРНК, среди которых могут быть те, которые необходимы для формирования и функционирования цитоскелета и, как следствие для нормального протекания морфогенетических процессов в ходе развития.

## THE WHEAT LEAF EPIDERMAL PATTERN AS A MODEL FOR STUDYING THE EFFECT OF STRESS CONDITIONS ON MORPHOGENESIS

Zubairova U.S.<sup>1,2</sup>, Doroshkov A.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Russia, Novosibirsk, pr. Lavrentieva, 10;*

<sup>2</sup> *Novosibirsk State University, Russia, Novosibirsk, ul. Pirogova, 1  
ulyanochka@bionet.nsc.ru*

The leaf epidermis of cereals is a widely used model system for studying the mechanisms of pattern formation for plant tissues, as it contains readily observable specialized cells. In this work we used a growing wheat leaf to study stress-induced dynamic changes in morphogenesis of specialized epidermal cells. In the process of formation, the leaf of wheat remains in the stationary growth phase for long time period. This fact permits us to observe a series of successive morphogenetic events recorded in the cellular structure of the mature leaf. Low temperatures are among the factors limiting the growing of crop plants in the temperate zone. We show significant aberrations of stomatal morphogenesis in the epidermis of boot leaves of wheat varieties Saratovskaya 29 and Yanetskis Probat in response to cold stress. We found that nonfunctional stomata predominated in the zone of maximum manifestation of stress, whereas in the zones formed before and after the stress impact, the developmental anomalies come to the disturbance in the morphogenesis of subsidiary cells [1].

For studying the cellular architecture of the wheat leaf epidermis, we obtained and processed confocal 3D images of leaves stained with fluorescent dyes using our Fiji-plugin LSM-W2 ([https://imagej.net/LSM\\_Worker](https://imagej.net/LSM_Worker)). The proposed approach can provide standardized qualitative and quantitative data on stress induced morphogenesis aberrations. Subsequently, these data were used for verification of the computational model of epidermal pattern formation for wheat leaf. A brickwork-like cell pattern allows to reduce the dimension and use a quasi-one-dimensional representation of the cellular ensemble in the model. This idea was realized in our model [2]. We assumed a unidirectional growing tissue starting from a meristem-like layer of generative cells and then generating parallel cell rows from every initial cell. We considered the growth zone of the leaf included division, elongation, and mature zones; in addition, the division zone included a zone forming specialized cells (trichomes and stomata). The model was verified on qualitative and quantitative data on cold stress induced disturbances of morphogenesis in the epidermis of wheat leaf. Further study of the mechanisms of the effect of cold stress on morphogenesis will add to the search for additional opportunities to increase wheat yields in areas of risky agriculture.

The reported study was funded by RFBR and Novosibirsk region according to the research project № 17-44-543384.

[1] Zubairova U.S., Doroshkov A.V. (2018) Wheat leaf epidermal pattern as a model for studying the influence of stress conditions on morphogenesis. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 22(7):837-844. DOI 10.18699/VJ18.32-o (in Russian)

[2] Zubairova U, Nikolaev S, Penenko A, Podkolodnyy N, Golushko S, Afonnikov D and Kolchanov N (2016) Mechanical behavior of cells within a cell-based model of wheat leaf growth. *Frontiers in Plant Science*. 7:1878. DOI:10.3389/fpls.2016.01878

## ИНВЕНТАРИЗАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВЕЗИКУЛ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СТАБИЛЬНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ КОНТЕЙНЕРОВ ДЛЯ ВОСПРОИЗВОДСТВА ИСКУССТВЕННОГО ГЕНОМА

Матюшкина Д.С., Бутенко И.О., Алехина О.М., Говорун В.М.  
ФНКЦ ФХМ ФМБА России, РФ, Москва, ул. Малая Пироговская 1А, 119435  
[d.matyushkina@gmail.com](mailto:d.matyushkina@gmail.com)

Комплексность и сложность устройства живых клеток делает изучение их организации чрезвычайно трудной задачей. В связи этим в последние годы широко развивается область синтетической биологии для создания искусственных клеток и использованию их в качестве упрощенных экспериментальных моделей. Но для конструирования таких искусственных объектов важно подобрать оптимальный белковый и метаболомный состав, которые смогут обеспечить стабильность и воспроизводство генетической информации. Помочь в решении этой задачи может анализ мембранных везикул, естественно продуцируемые Грам-отрицательными и некоторыми Грам-положительными бактериями, представляющие собой наноразмерные липид-двухслойные везикулярные структуры, несущие в своем составе определенный набор биоактивных белков, липидов, нуклеиновых кислот и метаболитов, которые обеспечивают стабильность данных «контейнеров» и могут являться тем необходимым минимальным набором компонентов для создания искусственной клетки. В связи с этим, целью нашего исследования являлось получение бактериальных везикул и их инвентаризация. В качестве донора везикул была выбрана бактерия *Acholeplasma laidlawii* (класс Mollicutes), характеризующаяся отсутствием клеточной стенки, а наличие дефекта в DCW-кластере способствует асинхронному делению и образованию большого количества везикул. Процесс выделения данных структур осуществлялся с помощью ультрацентрифугирования в градиенте перколла. Размер и стабильность выделяемых мембранных везикул была оценена с помощью микроскопии (световая, атомно-силовая, электронная). Качественный и количественный состав были проанализированы с помощью методов протеомного и геномно-транскриптомного анализов. По результатам проведенных экспериментов была осуществлена каталогизация состава природных «контейнеров».

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-29-08041 «Создание стабильных метаболитических контейнеров для воспроизводства искусственного генома».

## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ ДНК-МАТРИЦ, СОДЕРЖАЩИХ ИСКУССТВЕННЫЕ НУКЛЕОТИДЫ, В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ Т7 РНК ПОЛИМЕРАЗЫ

Мукба С.А.<sup>1,2</sup>, Власов П.К.<sup>3</sup>, Алкалаева Е.З.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Россия, Москва,  
ул. Вавилова, 32, 119991;

<sup>2</sup>Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова

<sup>3</sup>Institute of Science and Technology, Austria, Vienna, Am Campus 1, 3400 Klosterneuburg  
[Sabina.Mukba1996@mail.ru](mailto:Sabina.Mukba1996@mail.ru)

На сегодняшний день достижения в модификации генов и вирусной терапии привели к разработке множества векторов на основе вирусов, которые способны к репликации и экспрессии терапевтических белков в определенных тканях и даже в опухолевых клетках. Однако, вирусная терапия все еще имеет ряд ограничений, обусловленных вирусным характером доставки генетического материала. Прежде всего имеющиеся ограничения связаны с риском неконтролируемой репликации вируса и преждевременной экспрессии терапевтических белков. Нами предложена система, которая будет включать в себя репортерный ген, несущий искусственные нуклеотиды, и мутантную Т7 ДНК-зависимую РНК полимеразу, способную читать искусственные нуклеотиды в генах и транскрибировать их в природную мРНК. Такая генетическая конструкция не будет способна реплицироваться, а гены в ней транскрибироваться клеточными ДНК и РНК полимеразами. То есть ее существование будет полностью контролируемым. Для планирования позиций для сайт-направленного мутагенеза нами проведено молекулярное моделирование, в частности- докинг ДНК-матриц, содержащих искусственные нуклеотиды, в активном центре Т7 РНК полимеразы. В качестве лиганда выступала последовательность, состоящая из природных и неприродных нуклеотидов. С помощью метода молекулярного докинга удалось определить аффинность олигонуклеотидного лиганда с Т7 РНК-полимеразами, несущими различные аминокислотные замены. Полученные данные в дальнейшем будут использованы для сайт-направленного мутагенеза Т7 РНК-полимеразы, что в дальнейшем позволит приблизиться к решению проблемы биобезопасности вирусной терапии и открыть широчайшие возможности модуляции синтеза терапевтических белков.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-29-08044 и программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы (No. 1201363822).

## ТРАНСКРИПТЫ ГЕНА *Nxf1* С КАССЕТНЫМ ИНТРОНОМ И БЕЗ НЕГО В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ У РАЗНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Бондарук Д.Д., Е. В. Голубкова, Л. А., Мамон, В.Р. Гинанова, С. Ф. Кливер.  
Санкт-Петербургский Государственный Университет, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетская набережная 7–9; Санкт-Петербург, 199034, Россия  
[D.D.Bondaruk@yandex.ru](mailto:D.D.Bondaruk@yandex.ru)

Ген *Nxf1* (**n**uclear **e**xport **f**actor) относится к одноименному семейству генов, получившему свое название за счет того, что основной функцией этого белка является обеспечение ядерно-цитоплазматического транспорта большинства мРНК. Ген *Nxf1* является наиболее эволюционно консервативным и имеется у всех представителей группы *Opisthokonta*. Примечательной чертой гена *Nxf1* у представителей разных таксонов является наличие альтернативного транскрипта с сохраненным интроном. Этот интрон, вместе с окружающими его экзонами, образует эволюционно-консервативную интрон-экзонную кассету: экзон 110 п.н. - интрон - экзон 37 п.н., поэтому был назван нами кассетным. Для кассетного интрона характерно наличие эволюционно-консервативных областей, что позволяет предположить существование определенных адаптивных свойств и расширенного функционала сохраняющих «кассетный» интрон транскриптов. Было показано, что у дрозофилы среди транскриптов гена *DmNxf1* (*sbr*) транскрипт с кассетным интроном в тканях головы взрослого насекомого является преобладающим, а в тканях семенника – отсутствует [1]. Благодаря этому, стало возможно высказать предположение о нейроспецифичности интрон-содержащего транскрипта гена *Nxf1* и его особой роли в формировании и функционировании нервной системы. Проверить это предположение можно путем анализа соотношения транскриптов гена *Nxf1* с кассетным интроном и без него в различных органах у представителей разных видов животных. Результаты анализа показали, что в тканях мозга у позвоночных интрон-содержащий транскрипт гена *Nxf1* является преобладающим. Но и в других органах транскрипт гена *Nxf1* с кассетным интроном присутствует в значительном количестве. Интрон-содержащему транскрипту соответствует короткий белок, не содержащий С-терминальные последовательности, что лишает данный белок возможности осуществлять ядерно-цитоплазматический экспорт. Этот короткий белок может выполнять специализированные функции, отличные от функций полноразмерного белка, или быть партнером полноразмерного белка NXF1 в ядерном экспорте мРНК. Существует ли органо-специфичность в появлении короткого белка, и в чем заключаются его функции, на эти вопросы еще предстоит ответить.

[1]. Ivankova et al., Alternative transcripts expressed by *small bristles*, the *Drosophila melanogaster nxf1* gene. // 2010. Gene. V. 458. P. 11-19.

## FOLDGO - НОВЫЙ МЕТОД АНАЛИЗА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ОБОГАЩЕНИЯ С УЧЕТОМ СТЕПЕНИ ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ

Вибе Д.С.<sup>1,2</sup>, Омелянчук Н.А.<sup>1,2</sup>, Мухин А.М.<sup>1,2</sup>, Лашин С.А.<sup>1,2</sup>, Миронова В.В.<sup>1,2</sup>,

<sup>1</sup> *Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

<sup>2</sup> *Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия*

*victoria.v.mironova@gmail.com*

В настоящее время технологии полногеномного анализа активности генов широко используются во многих областях биологии и медицины. Одним из часто используемых подходов к анализу полногеномных данных является поиск дифференциально-экспрессирующихся генов (ДЭГ) и анализ представленности функциональных групп генов. Однако, данные полногеномных экспериментов по исследованию дифференциально экспрессирующихся генов содержат больше информации чем позволяют обнаружить современные метода анализа. Ранее, нами был предложен метод поиска функциональных категорий Генной Онтологии (ГО), обогащенных среди генов с одинаковой степенью изменения экспрессии (фолд-специфичные ГО категории) [1]. Данный метод позволяет выявлять статистически значимую ассоциацию между функцией генов и степенью изменения их экспрессии. Однако, до сих пор не существовало инструмента, который бы позволял проводить такой анализ. Поэтому, мы реализовали разработанный нами метод в виде пакета FoldGO для языка программирования R (<http://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/FoldGO.html>). Использование пакета FoldGO предполагает базовые знания языка программирования R, для того чтобы метод был доступен более широкой аудитории пользователей мы реализовали метод в виде веб-сервиса (<http://webfsgor.sysbio.cytogen.ru>). Была произведена апробация FoldGO на данных десятков экспериментов по изучению транскриптома человека и арабидопсиса, в результате которой нами было обнаружено, что разработанный нами метод позволяет не только обнаруживать ассоциацию между функцией исследуемых генов и их степенью изменения экспрессии, но и выявлять фолд-специфичные ГО категории, относящиеся к исследуемому фактору и не представленные в выдаче других методов анализа функционального обогащения. Например, в результате детального анализа данных эксперимента по исследованию экспрессии гена конститутивно активного андрогенового рецептора (AR-V7 сплайс-вариант) в клеточной линии LNCaP [2], были выявлены фолд-специфичные ГО термины связанные с процессом онкогенеза, которые не были выявлены другими методами анализа функционального обогащения групп генов.

Данная работа была осуществлена при поддержке проектов РФФИ 19-54-12013, 18-34-00871

Список литературы:

Omelyanchuk N.A., et al. Auxin regulates functional gene groups in a fold-specific manner in Arabidopsis root // Nat Sci Rep – 2017 - N7(1) - p2489 - doi:10.1038/s41598-017-02476-8.

Cottard, F., Madi-Berthélémy, et al. Dual effects of constitutively active androgen receptor and full-length androgen receptor for N-cadherin regulation in prostate cancer // Oncotarget - 2017 г - N8 - c72008-72020.

## РАЗРАБОТКА ПОДХОДА ДЛЯ АНАЛИЗА ПОЛНО- ТРАНСКРИПТОМНЫХ ДАННЫХ

Власов И.Н.<sup>1</sup>, Шадрина М.И.<sup>1</sup>, Сломинский П.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>. Россия, Москва, Площадь академика Курчатова д.2, 123182, Институт Молекулярной Генетики РАН, Лаборатория молекулярной генетики наследственных болезней ОМОГЧ.

[invlasov@mail.ru](mailto:invlasov@mail.ru)

Технология масштабного параллельного секвенирования полного транскриптома, также известная как РНА-сек (RNA-seq) в последние годы становится основным подходом к выявлению дифференциальной экспрессии генов. Экспрессия каждого вида РНК в таких подходах определяется при помощи измерения количества соответствующих этому виду отсеквенированных фрагментов, или ридов. Этот подход принципиально отличается от методов, основанных на комплементарном взаимодействии с зондами, таких как микрочипы. Эти отличия привели к быстрому развитию множества новых подходов и алгоритмов для картирования ридов, нормализации и обнаружения дифференциальной экспрессии.

В силу того, что результаты, полученные при помощи различных алгоритмов могут разительно отличаться, необходимо проявлять особое внимание к выбору инструментов для анализа полно-транскриптомных данных и получения надежных и воспроизводимых результатов.

Для разработки подхода для анализа полно-транскриптомных данных был проведен анализ литературы и бенчмарки с использованием данных SEQC II, позволяющих верифицировать результаты работы пайплайна (набор последовательно применяемых биоинформатических инструментов) с использованием более чем 16 тыс. генов, дифференциальная экспрессия которых измерена при помощи RT-PCR. Для определения успешности работы алгоритма мы использовали коэффициент корреляции между кратным изменением (Fold change - FC) экспрессии для каждого гена, полученным на данных RT-PCR, и FC, полученным при помощи сравниваемых алгоритмов на данных RNA-seq. Также мы анализировали распределение генов в пространстве логарифмированных FC RNA-seq и RT-PCR, и пересечение списков дифференциально экспрессирующихся генов, полученных при помощи различных методов выравнивания.

В результате этого нами был выбран набор инструментов, позволяющий определять дифференциальную экспрессию с высокой точностью.

## АЛГОРИТМ ИДЕНТИФИКАЦИИ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ НЕОХАРАКТЕРИЗОВАННЫХ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМАХ

Вычик П.В.<sup>1</sup>, Николайчик Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Беларусь, Минск, пр. Независимости 4  
[p.vychik@gmail.com](mailto:p.vychik@gmail.com)

Аннотация подавляющего большинства бактериальных геномов не содержит информации о регуляторных последовательностях, в том числе о сайтах связывания транскрипционных факторов (операторов), что серьезно ограничивает как понимание функционирования геномов, так и решение прикладных задач генной инженерии и биотехнологии. Мы предлагаем относительно простой, универсальный и максимально автоматизированный способ идентификации операторов *de novo* в неисследованных в этом отношении геномах. В основе метода идентификации мотивов – использование информации о структурах кристаллизованных комплексов транскрипционных факторов (ТФ) со своими операторами. Анализ контактов в комплексе позволяет определить критичные для специфических связей с ДНК аминокислотные остатки, причем для представителей одного семейства ТФ позиции этих остатков консервативны. Использование марковских моделей PFAM для ДНК-связывающих доменов ТФ позволяет легко идентифицировать представителей одного семейства в геноме и критичные аминокислотные остатки для каждого из них. Авторегуляция и расположение (в большинстве случаев) сайта связывания ТФ в геноме рядом с геном ТФ делает возможной идентификацию операторного мотива путем анализа регуляторных областей гена ТФ и расположенных рядом с ним транскрипционных единиц из геномов, содержащих гомологичные ТФ этого же семейства с идентичными критичными аминокислотными остатками.

Алгоритм поиска мотива для сайта связывания конкретного ТФ включает следующие стадии: идентификация критичных аминокислотных остатков и выбор в белковой базе данных trEMBL ТФ того же семейства с такими же критичными остатками;

экстракция геномных фрагментов, кодирующих каждый из отобранных ТФ, из базы данных GenBank, идентификация регуляторных областей оперона, кодирующего ТФ, и двух соседних оперонов;

поиск статистически значимых мотивов в наборе регуляторных областей с помощью программы MEME;

сравнение найденных мотивов (программа TomTom) с референсной библиотекой для идентификации типичного для семейства ТФ мотива;

окончательный выбор корректного мотива делается пользователем на основании анализа статистических характеристик мотивов, рассчитанных MEME и TomTom.

Тестирование алгоритма с транскрипционными факторами *E. coli* показало его способность корректно определять от 60 до более 90 % известных мотивов (в зависимости от семейства ТФ).

Алгоритм реализован в версии 2 программы Sigmoid, открытый код и исполняемые файлы которой доступны по адресу [github.com/nikolaichik/Sigmoid](https://github.com/nikolaichik/Sigmoid).

## ВЗАИМОСВЯЗЬ КОПИЙНОСТИ ГЕНОВ И ВИРУЛЕНТНОСТИ ШТАММОВ *E. COLI*

Гаранина И.А.<sup>1</sup>, Максютлов Н.Ф.<sup>1</sup>, Букато О.Н.<sup>1</sup>, Орехов Д.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, Россия, Москва, 119435, ул. Малая Пироговская дом 1а; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский Государственный Университет, Россия, Санкт-Петербург, 190000, ул. Галерная 58-60.

[irinagaranina24@gmail.com](mailto:irinagaranina24@gmail.com)

Бактерия *Escherichia coli* хорошо изученный комменсал кишечника человека. Некоторые штаммы *E. coli* являются патогенными и вызывают широкий спектр заболеваний желудочно-кишечного и урогенитального трактов. Патогенные штаммы характеризуются наличием факторов патогенности. Наличие факторов патогенности не гарантирует проявление патогенных свойств штамма, на которые могут влиять другие факторы, такие как экспрессия генов и их последовательность. В этой работе мы впервые провели сравнительный анализ геномов штаммов различных патотипов *E. coli* для того, чтобы оценить как влияет количество копий генов факторов патогенности на патогенность штаммов *E. coli*.

Используя доступные данные о последовательностях более 7 тыс. геномов штаммов *E. coli* мы построили математическую модель, которая предсказывает патогенность штамма по наличию/отсутствию факторов патогенности. С помощью модели мы выявили гены, которые вносят наибольший вклад в проявление патогенности. Мы проанализировали количество копий этих генов и уже известных факторов патогенности *E. coli* в геномах штаммов различных патотипов. Повышенная копийность генов факторов патогенности наблюдалась в штаммах энтерогеморрагического патотипа и не наблюдалась в геномах комменсальных и внекишечных патогенных штаммов. Особенно высокая копийность была выявлена для генов, кодирующих мобильные генетические элементы и гены фагового происхождения. Полученные нами данные указывают на важную роль мобильных генетических элементов в проявлении патогенности патогенными штаммами *E. coli*.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-15-00258.

## ТАНДЕМНЫЕ ПОВТОРЫ В ГЕНОМЕ КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА

Иванова Н.Г.<sup>1</sup>, Картавецва И.В.<sup>2</sup>, Подгорная О.И.<sup>1</sup>, Остромышенский Д.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр-т. д.4; <sup>2</sup>ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Россия, Владивосток, Пр-т 100-летия Владивостока, 159  
[nadyaxs@gmail.com](mailto:nadyaxs@gmail.com)

Для поиска тандемных повторов (ТП) использовали программу TRF (Tandem repeat finder). Подбор олигонуклеотидных проб для FISH осуществлялся программой на языке Python. Короткие зонды синтезированы с мечеными биотином или флуоресцентной меткой 3'-/5'-концами. При FISH использовали два варианта отмывок негибридизовавшихся зондов: 1) жесткий — двукратная отмывка 0,2x SSC 5 минут при 42С; 2) мягкая - двукратная отмывка 2x SSC 5 минут при комнатной температуре. Мы считаем, что FISH с жесткой отмывкой будет показывать места локализации самых консервативных и протяженных полей ТП. В то время как FISH с мягкой отмывкой показывает локализацию более дивергированных и/или менее протяженных полей. При жесткой отмывке большинство ТП (например, CG-33A, CG-72A, CG-62A) дают сигнал на одной-двух парах хромосом, обычно это одна из хромосом, предсказанных *in silico* (Приложение. Таблица 1), а также 5-я хромосома. Только два семейства ТП CG-25A и CG-84A дают сигнал в перичентромере большинства хромосомных пар. При мягкой отмывке картина меняется. Например, зонд к семейству CG-72A дает сигнал в перичентромере 4 пар хромосом (3, 7-9 пары хромосом), в субтеломерном районе 3-х пар хромосом (1, 2, 6), а на 5-й паре хромосом зонд дает сигнал и в перичентромерном и в субтеломерном районах. В тоже время при мягкой отмывке сигнал наблюдается только в перичентромере 5-й пары и субтеломере 2-й пары хромосом. Зонд к семейству CG-62A дает сигнал в перичентромере 7-ми пар хромосом (3-7, 9, 10), а при мягкой отмывке на 3 и 5-й парах хромосом. С другой стороны для CG-33A картина гибридизации остается одинаковой для обоих вариантов отмывок — сильный сигнал в перичентромерном районе 5-й хромосомы и слабый в перичентромерном районе 6-й хромосомы. Семейство CG-84A при обоих вариантах отмывок дает сигнал в области первичной перетяжки 9-10-ти пар хромосом. Нами показано, что большинство исследованных семейств дают сильный сигнал в области перичентромера 5-й пары хромосом для которой характерен крупный блок С-позитивного гетерохроматина.

Нами впервые найдены около 100 семейств ТП китайского хомячка. Часть из ТП картирована на хромосомы. Впервые показано необычное распределение ТП на хромосомах китайского хомячка, не встречающееся в других исследованных группах.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-34-00238.

## АНАЛИЗ ЭВОЛЮЦИИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ У ГЕЛЬМИНТОВ

Константинов Д.К.<sup>1,2</sup>, Дорощков А.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>НГУ, Новосибирск, ул. Пирогова, 1; <sup>2</sup>ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

[konstantinov@bionet.nsc.ru](mailto:konstantinov@bionet.nsc.ru)

Для успешного противодействия окислительному стрессу внутри организма хозяина, животные-эндопаразиты подобно любым животным используют тиоредоксиновый и глутатионовый пути деградации активных форм кислорода (АФК). Однако, существуют данные, которые говорят в пользу того, что данные пути отличаются между паразитическими и свободноживущими видами плоских червей. Обе системы были описаны у свободноживущего червя - *Schmidtea mediterranea* [1]. Также показано, что у части паразитических червей, таких как *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus Granulosus* (класс *Cestoda*); *Schistosoma mansoni* (класс *Trematoda*), тиоредоксинредуктазы и глутатионредуктазы заменены одним ферментом, тиоредоксин-глутатионредуктазой [2]. Таким образом, можно предполагать, что перестроение биохимических путей при переходе к паразитическому образу жизни в значительной степени затрагивает ферменты антиоксидантной защиты. Комплексная оценка этих эволюционных изменений может быть сделана с использованием доступных геномных данных.

Целью настоящей работы являлось выявление тенденции изменения биохимических систем, связанные с переходом от свободного образа жизни к паразитическому.

В ходе работы на основе литературных данных была сформирована выборка генов, участвующих в исследуемых биохимических путях у следующих модельных организмов *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Danio rerio*, *Trichinella spiralis*, *Schistosoma mansoni*, *Opisthorchis viverrini*, *S. mediterranea*. В базах данных NCBI, Wormbase и KEGG, при помощи алгоритма BLAST, были выявлены группы гомологичных генов для всех доступных гельминтов (124 вида). Было произведено множественное выравнивание алгоритмом MAFFT. Построение филогенетических деревьев было выполнено алгоритмом PhyML и Beast2. Были сопоставлены доменные структуры найденных белков.

В результате работы выявлены отличия в наборе генов отвечающих за синтез ферментов антиоксидантных систем между свободноживущими и паразитарными видами. Гены Cu-Zn супероксиддисмутаза (класс 1) утрачены у части круглых червей класса *Enoplea*. Выявлено событие дупликации гена Fe-Mn супероксиддисмутаза (класс 2) в классе *Trematoda*. Выявлена утрата генов глутатион пероксидаз 1,2,3,5,6 типов у плоских червей, однако ортологи глутатион пероксидазы 4 встречаются у части видов. Полученные данные расширяют представление о системах антиоксидантной защиты гельминтов, и в дальнейшем, могут быть использованы для развития методов борьбы с ними.

[1] Otero L. et al. Thioredoxin and glutathione systems differ in parasitic and free-living platyhelminths // BMC genomics. – 2010. – Т. 11. – №. 1. – С. 237.

[2] Williams D. L. et al. Thioredoxin glutathione reductase-dependent redox networks in platyhelminth parasites // Antioxidants & redox signaling. – 2013. – Т. 19. – №. 7. – С. 735-745.

## SOFTWARE TOOL FOR ANALYSIS OF POSSIBLE ALIGNER ARTEFACTS IN SEQUENCING

Dergilev A.I.<sup>1</sup>, Naumenko F.M.<sup>1</sup>, Luzin A.N.<sup>1</sup>, Abnizova I.I.<sup>2</sup>, Orlov Y.L.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Novosibirsk State University, 630090 Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup>*Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, UK*

<sup>3</sup>*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090 Novosibirsk, Russia*  
*arturd1993@yandex.ru; orlov@bionet.nsc.ru*

Development of next-generation sequencing (NGS) technologies produces an impressive amount of genomics data demanding development of novel computer tools. The production of gigabytes of sequencing data in a few hours presents ever-increasing demands on the quality and speed of processing. Mapping reads against a reference genome is typically the first step in analyzing next-generation sequencing data. It is an important step for further analysis, such as identification of protein binding sites from ChIP-sequencing data or variant calling. The quality and efficiency of mapping becomes critical. Hence the growing interest in benchmarking of short read aligners is clear. We compare set of tools (read aligners) and present software for sequencing quality estimates to reveal possible mapping artefacts [1].

A number of robust benchmarking surveys of short read aligners have been published. To reliably estimate these tools, simulated data is often used because of their predictability, reproducibility and manageability [2]. The use of artificial data to evaluate the performance of aligners and peak callers not only improves its accuracy and reliability, but also makes it possible to reduce the computational time. One of the natural ways to achieve such time reduction is by mapping a single chromosome. We investigated whether a single chromosome mapping causes any artefacts in the alignments' performances. Commonly used statistical methods are insufficient to evaluate an aligner performance, and applied a novel measure of a read density distribution similarity, which allowed to reveal artefacts in aligners' performances. We also calculated some interesting mismatch statistics, and constructed mismatch frequency distributions along the read.

The generation of artificial data by mapping of reads generated from a single chromosome to a reference chromosome is justified from the point of view of reducing the benchmarking time. The proposed quality assessment method allows to identify the inherent shortcoming of aligners that are not detected by conventional statistical methods, and can affect the quality of alignment.

**Acknowledgement.** The authors are grateful to ICG SB RAS budget project 0324-2019-0040 and RFBR for the work support.

### References

- [1]. Naumenko F.M., Abnizova I.I., Beka N., Genaev M.A., Orlov Y.L., Novel read density distribution score shows possible aligner artefacts, when mapping a single chromosome. // 2018, BMC Genomics, V.19(Suppl 3), P.92. doi: 10.1186/s12864-018-4475-6
- [2] te Boekhorst R., Naumenko F.M., Orlova N.G., Galieva E.R., Spitsina A.M., Chadaeva I.V., Orlov Y.L., Abnizova I.I. Computational problems of analysis of short next generation sequencing reads. Vavilov journal of selection and breeding. // 2016, V.20(6), P.746-755 DOI 10.18699/VJ16.191

## ОЦЕНКА ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ШТАММОВ *E. COLI* МЕТОДАМИ МАШИННОГО ОБУЧЕНИЯ

Гаранина И.А.<sup>1</sup>, Максютлов Н.Ф.<sup>1</sup>, Букато О.Н.<sup>1</sup>, Орехов Д.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства, Россия, Москва, 119435, ул. Малая Пироговская дом 1а; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский Государственный Университет, Россия, Санкт-Петербург, 190000, ул. Галерная 58-60.  
[irinagaranina24@gmail.com](mailto:irinagaranina24@gmail.com)

Благодаря развитию технологий секвенирования накапливается все больше полных геномов различных организмов. Однако большинство фенотипических признаков не находится в очевидной зависимости от какого-либо одного конкретного гена. Одним из таких признаков, например, является патогенность бактерий. Большой потенциал в выявлении по генетическим данным подобных свойств организма имеют методы машинного обучения.

В ходе работы была создана модель-классификатора, которая по набору ортологов штамма бактерии *Escherichia coli* (*E. Coli*) оценивает вероятность наличия у него патогенных свойств. Была использована выборка из 2457 штаммов *E. Coli*, выделенных от человека, производилась фильтрация от близкородственных групп, чтобы препятствовать переобучению алгоритма. Финальная модель имела качество 0.84 ROC AUC, также был выделен список наиболее важных групп ортологов, использующихся алгоритмом для принятия решения.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РНФ 16-15-00258.

## ТРАНСКРИПЦИЯ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ ХМЕЛЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*HUMULUS LUPULUS*)

Старикова Е.В.<sup>1</sup>, Дивашук М.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФНКЦ ФХМ, Россия, Москва, ул. Малая Пироговская 1а;

<sup>2</sup>ВНИИСХБ, Россия, Москва, ул. Тимирязевская 42

[estarikova@rcpctm.org](mailto:estarikova@rcpctm.org)

Повторяющиеся последовательности ДНК составляют значительную часть геномов эукариот, и, в частности, конститутивного гетерохроматина. В последнее время появляется всё больше исследований, показывающих транскрипционную активность повторяющейся ДНК у различных организмов, однако функция данных последовательностей остаётся не до конца ясной. Целью нашего исследования являлась оценка уровней транскрипции повторяющихся последовательностей ДНК в различных тканях хмеля обыкновенного.

Для поиска повторяющихся последовательностей ДНК нами были проанализированы геномные сиквенсы хмеля обыкновенного сорта Saazer и дикой разновидности *Humulus lupulus* var. *cordifolius* [1] с помощью пайплайнов RepeatExplorer [2] и TAREAN [3]. В результате было получено 344 кластера высококопийных повторов, значительная часть которых относилась к транспозонам группы Ty3-gypsy. 7 кластеров были отнесены к предположительным сателлитным последовательностям. Риды, относящиеся к кластерам сателлитных последовательностей и наиболее высокопредставленных транспозонов, были собраны нами в контиги. Полученные сборки были использованы для оценки уровня транскрипции повторяющихся последовательностей ДНК в различных тканях хмеля обыкновенного: женского соцветия, цветка и желёзок, а также листьев и стебля [1]. В ходе данной работы было показано наличие картирующихся транскриптов на сборки кластеров повторяющейся ДНК во всех проанализированных тканях, при этом пропорции транскриптов, картирующихся на сборки различных кластеров, оставались неизменными между тканями. Наибольшее количество транскриптов, картирующихся на сборки сателлитных последовательностей ДНК и Ty3-gypsy транспозонов, было показано для тканей соцветия. Полученные результаты позволяют предположить, что транскрипция высококопийных повторов идёт случайным образом, при этом в тканях, ассоциированных с размножением, повышена экспрессия всех групп повторяющейся ДНК.

[1] Natsume S. et al. The draft genome of hop (*Humulus lupulus*), an essence for brewing //Plant and Cell Physiology. – 2014. – Т. 56. – №. 3. – С. 428-441.

[2] Novák P. et al. RepeatExplorer: a Galaxy-based web server for genome-wide characterization of eukaryotic repetitive elements from next-generation sequence reads //Bioinformatics. – 2013. – Т. 29. – №. 6. – С. 792-793.

[3] Novák P. et al. TAREAN: a computational tool for identification and characterization of satellite DNA from unassembled short reads //Nucleic acids research. – 2017. – Т. 45. – №. 12. – С. e111-e111.

## ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ IN-SITU ПО ГЕНАМ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ (ГКГС) ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ПРОЕКТА «РОССИЙСКИЕ ГЕНОМЫ» И ДЛЯ ПРОЕКТА «VAKE-OFF»

Шиманский В.С<sup>1</sup>., Жернакова Д<sup>1</sup>., Стефан Джеймс О'Брайен<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория «Центр геномной юбиоинформатики им. Ф.Г.Добрянского», Санкт-Петербург, Средний пр. В.О., д. 41А

[Shimansky.valya@yandex.ru](mailto:Shimansky.valya@yandex.ru)

Генотипирование ГКГС является важной задачей как с научной точки зрения, так и с медицинской. Исследуемый локус характеризуется очень высоким полиморфизмом в связи со своей важной функцией в формировании иммунного ответа и необходимостью реагировать на большое количество патогенных факторов. Однако широкий перечень аллелей для каждого из генов вызывает трудности и приводит к низкой точности при дальнейшем генотипировании методами *in situ*.

Целью данной работы является поиск оптимального сочетания программ и их параметров для всех этапов генотипирования начиная с выравнивания результатов полногеномного секвенирования и заканчивая программами, выявляющими конкретные аллели генов ГКГС.

Для этого были поставлены следующие задачи:

1. Подготовка данных полногеномного секвенирования для генотипирования комплекса генов гистосовместимости (выравнивание ридов и последующее выделение участка 6 хромосомы с исследуемыми генами)
2. Проведение генотипирования при помощи специализированных программ
3. Сравнение работы различных программ типирования и выравнивания, выбор наиболее точного метода
4. Анализ результатов типирования по генам ГКГС

Материалами данной работы были 328 образцов проекта «Российские геномы» и 10 образцов проекта «Vake-off»

В ходе исследования были протестированы следующие программные пакеты:

Выравнивание – BWA, bowtie 2, Mosaik; генотипирование – Athlates tool, Optitype, HLA-LA.

Отработка алгоритмов проводилась на образцах проекта «Vake-off», так как для них имеется контроль в виде результатов молекулярного генотипирования по генам ГКГС. Наилучшие результаты показало сочетание программ BWA для первичного выравнивания и HLA-LA для генотипирования. С их помощью было проведено генотипирования образцов проекта «Российские геномы».

## TEXT COMPLEXITY OF GENOME SITES CONTAINING SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS

Orlov Y.L.<sup>1,2</sup>, Galieva A.G.<sup>3</sup>, Luzin A.N.<sup>3</sup>, Zhilitsky V.E.<sup>3</sup>, Dergilev A.I.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090 Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup> *I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University)*

<sup>3</sup> *Novosibirsk State University, 630090 Novosibirsk, Russia*

*orlov@bionet.nsc.ru*

Identifying regions of DNA with extreme statistical characteristics is an important aspect of the structural analysis of complete genomes. Linguistic methods, mainly based on estimating word frequency, can be used for the delineation of regions of low complexity. Low complexity may be due to biased nucleotide composition, by tandem- or dispersed repeats, by palindrome-hairpin structures, as well as by a combination of all these features [1]. We have analyzed sequence text complexity in flanking regions for the set of known single nucleotide polymorphisms (SNP) from the "1000 genomes" project as well several mammalian genomes from GenBank. The aim was to find general and specific features for SNP sites.

We used previously developed [1] and applied novel statistical computational methods to analyze genetic text based on its complexity. A complexity profiling in sliding window is applied to the sites, containing single nucleotide polymorphisms within a human genome. Complexity profiles for SNP-containing sites shows that flanking monomer repeats define lower context complexity of sites containing SNPs within a human genome. An effect of local decrease in text complexity in SNP-containing sites is confirmed by analysis of polymorphisms in available model genomes (mice and rat).

Problem SNP sites analysis is of importance for personalized medicine and genomics studies [2]. The changes in point mutation frequency were shown earlier for microsatellite containing sequences. Using extended data sets this work shows enrichment of polytracks and simple sequence repeats in local genome surroundings of SNP containing sites. Such oligonucleotides are related to nucleotide poly-tracks. The presence of poly-A tracks might be associated with an increased probability of double helix DNA breaks around mutable loci and following fixation of nucleotide changes.

**Acknowledgement.** The authors are grateful to ICG SB RAS budget project and RFBR for the work support.

References

[1] Orlov Y.L., te Boekhorst R., Abnizova I.I. Statistical measures of the structure of genomic sequences: entropy, complexity, and position information. *J Bioinform Comput Biol.* // 2006, V.4, P.523-536.

[2] te Boekhorst R., Naumenko F.M., Orlova N.G., Galieva E.R., Spitsina A.M., Chadaeva I.V., Orlov Y.L., Abnizova I.I. Computational problems of analysis of short next generation sequencing reads. *Vavilov journal of selection and breeding.* // 2016, V.20(6), P.746-755 DOI 10.18699/VJ16.191

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ СТРЕСС-АССОЦИИРОВАННЫЕ БЕЛКИ С ДОМЕНАМИ ЦИНКОВЫХ ПАЛЬЦЕВ A20/AN1, В ГЕНОМЕ ЯБЛОНИ *in silico*

Кузмицкая П.В., Урбанович О.Ю

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Республика Беларусь, Минск,

ул. Академическая, 27;

[O.Urbanovic@igc.by](mailto:O.Urbanovic@igc.by)

Стресс-ассоциированные белки (SAP, stress-associated proteins) представляют собой транскрипционные факторы с цинковыми пальцами, содержащие домены A20 и (или) AN1. В геноме яблони домашней сорта Golden Delicious *in silico* выявлены гены, кодирующие гипотетические SAP. Поиск генов, кодирующих SAP, был проведен с помощью ПО hmmer3 и НММ-профилей, загруженных из базы данных PFAM. Подтверждение принадлежности генов-кандидатов к семейству SAP было выполнено с помощью SMART. В общей сложности 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 по одному домену AN1. Проведена оценка филогенетических взаимоотношений гипотетических SAP из генома яблони с гомологами из других видов (на примере двудольного хлопчатника и однодольного риса) на основании их аминокислотных последовательностей. Анализ нуклеотидной структуры регионов, расположенных перед генами, кодирующими SAP, свидетельствует о вовлеченности стресс-ассоциированных белков в сложную сеть взаимодействия регуляторных белков, управляющих жизнедеятельностью растительных клеток. Исходя из выявленных мотивов, можно предположить, что экспрессия стресс-ассоциированных белков у яблони происходит, вероятнее всего, непрерывно, однако изменения условий произрастания растения могут приводить к увеличению ее уровня. Регуляция экспрессии SAP может меняться в зависимости от стадии онтогенеза растения и отличаться в разных его органах. Об этом свидетельствует наличие сайтов связывания для транскрипционных факторов, участвующих в формировании органов растения, определении времени прохождения стадий онтогенеза и др. Наличие сайтов связывания для регуляторных элементов, влияющих на устойчивость растений к неблагоприятным условиям, позволяет предполагать, что экспрессия SAP у яблони, так же, как и у других изученных растений, будет изменяться в ответ на стресс.

## DOES THE DEPTH MATTER? COMPARATIVE TRANSCRIPTOME STUDY OF COMMON EUROPEAN SUBTIDAL AND INTERTIDAL BIVALVES

Bondareva O., Genelt-Yanovskiy E., Abramson N.

Zoological Institute RAS, Birzhevaya line 1, St.Petersburg, 199034, Russia

[genelt.yanovskiy@gmail.com](mailto:genelt.yanovskiy@gmail.com)

Bivalves play a significant role in the nearshore ecosystems and represent one of the dominant groups of macrofauna in the deep sea. The number of species, normally inhabiting intertidal communities are also very common in the upper subtidal zone. Similarly, many typical subtidal species can be found either just below the low tide level mark or as deep as the bathyal zone. Comparison of transcriptomes of phylogenetically close taxa showing contrasting adaptations, or phylogenetically distant taxa that have similar adaptive traits allows revealing convergence and parallelisms at the molecular level. This approach allows testing the hypothesis of the origin of mutations that lead to similar phenotype effects, and reveal the velocity at which mutation in the DNA may cause a phenotypic effect.

We used whole body transcriptomes of *Limecola (Macoma) balthica*, *Mya arenaria*, *Arctica islandica* and *Hiatella arctica*, available from GenBank SRA database and assembled *de novo* using Trinity pipeline. Transcriptome-wide scans for common genes under selection were implemented by using the standard pipeline with estimation of  $dN/dS$  ratio in ortholog genes of studied species, and computation of Gene Ontology (GO) terms) enrichment. Ortholog genes were identified using *protheintho* program,  $dN/dS$  values were determined in *PAML codeml* program for each orthogroup. GO enrichment analysis was performed with *Webgestalt* software.

GO-terms statistics analysis indicated high level of differences in genes involved in (i) organic (primary lipid and protein) metabolic processes, and (ii) anatomical structure and development processes. Earlier, bivalves have been shown to intake dissolved glycolic acid from the sea water column, the most important component of phytoplankton extracellularly released carbon (DiDomenico & Iverson 1977). Revealed non-phylogenetic differences between the transcriptomes of intertidal and subtidal species presumably reflect differences in their diet and seems to reflect other adaptive traits of two ecological groups of species studied.

**Acknowledgements.** The research was supported by the RFBR 18-34-00572, RAS research projects AAAA-A17-117042410167-2, Programs of Presidium RAS “Dynamics of gene pools in natural populations” and “Development of vital and biosphere processes”.

## A COMPUTER PROGRAM FOR CONSTRUCTION OF REGRESSION FUNCTION IN AGROCLIMATIC MODELS

Kozlov K<sup>1</sup>, Nuzhdin S.<sup>1,2</sup>, Samsonova M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Peter the Great St.Petersburg Polytechnic University, St.Petersburg, Russia; <sup>2</sup>University of Southern California, Los Angeles, CA, USA

[kozlov\\_kn@spbstu.ru](mailto:kozlov_kn@spbstu.ru)

Regression models that connect agronomic traits to climatic factors provide valuable insights into phenological characteristics of cultivars. The interactions between factors and  $L$  different geographical locations or genotypes is modeled by a weighted sum of pairwise products between a control function and group indicator variable. Thus, a computer program presented here constructs a model (1).

$$y_i = \beta_0 + \sum_{n=0}^{N-1} \beta_{n+1} F_n(X_i) + \sum_{n=0}^{N-1} \sum_{l=1}^L \zeta_{l \cdot N+n} \cdot F_n(X_i) \cdot d_i^l + \varepsilon_i \quad (1)$$

where  $y_i$  is a phenotype for plant  $i$ ,  $\beta_n$  and  $\zeta_{l \cdot N+n}$  are regression coefficients,  $N$  is the number of functions  $F_n$ ,  $X_i$  is a vector of factors,  $d_i^l = 1$ , for plant  $i$  from group  $l$  and  $=0$  otherwise, and  $\varepsilon_i$  is a standard error.

The analytic form of function  $F_n$  is build using a formal approach termed Grammatical Evolution (GE). This technique builds expression from “word” of length  $M$  according to the rules of a defined grammar. The model is further build using LASSO algorithm. The set of predictors is determined by minimization of approximation error with Differential Evolution (DEEP) [1].

Although a few GE implementations are freely available they either lack a specific set of expressions or show low performance in our tasks. We implemented GE in C++ using Armadillo, mlpack, HDF5, HighFive and Qt for efficient matrix operations, the LASSO method, data input-output and utility functions, respectively. The code is available on GitLab (<https://gitlab.com/mackoel/nlreg>) and can be compiled for GNU/Linux and MS Windows 10 operating systems.

A program is accessed using command line interface that accepts several options. Tabular data is read from a HDF5 file and parameters are supplied in a file in INI-format. To facilitate high-performance computing a program can utilize OpenMP and MPI parallelization technologies.

The approach was successfully applied to the three datasets for soybean and chickpea to predict time to flowering. For a dataset that comprises 379 plants of 9 soybean different accessions phenotyped at Pushkin VIR stations in 1999-2013 the method constructed a more accurate model (coefficient of determination  $R^2=0.60$ ) than earlier one in Seferova&Novikova (2015) [2]. The models for chickpea VIR landraces from Turkey ( $R^2=0.45$ ) and Ephiopia ( $R^2=0.52$ ) revealed the difference of impacts of temperature and precipitation. The model for wild chickpea collected by von Wettberg et al. (2018) showed that the site of origin-by-growth environment interaction accounts for about 14.7% of variation in time to flowering.

[1]. Kozlov et al., A software for parameter optimization with differential evolution entirely parallel method. // 2016, PeerJ Computer Science, V.2, P.74

[2]. Kozlov et al., A Mathematical Model of the Impact of Climatic Factors on Soybean Development. // 2018, Biophysics, V.63, issue 1, P. 175–176.

**Acknowledgements:** Supported by the Federal Targeted Program (Agreement No. 14.575.21.0136). Calculations were performed in Supercomputer Center of Peter the Great St.Petersburg Polytechnic University.

## NEXT GENERATION WHOLE GENOME SEQUENCING OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* STRAINS OF THE PETERHOF GENETIC COLLECTION

Matveenko A.G.<sup>1,2</sup>, Drozdova P.B.<sup>1,3</sup>, Barbitoff Y.A.<sup>1,2</sup>, Moskalenko S.E.<sup>4,1</sup>, Tarasov O.V.<sup>1,5</sup>, Polev D.E.<sup>1</sup>, Beliavskaia A.V.<sup>6</sup>, Predeus A.V.<sup>2,6</sup>, Zhouravleva G.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Saint-Petersburg State University, Russia, St. Petersburg 199034 Universitetskaya emb., 7/9;

<sup>2</sup>Bioinformatics Institute, Russia, St. Petersburg 197342 Kantemirovskaya st., 2A;

<sup>3</sup>Institute of Biology, Irkutsk State University, Russia, Irkutsk 664003 Lenin st., 3

<sup>4</sup>Vavilov Institute of General Genetics, St. Petersburg Branch, Russia, St. Petersburg 199034 Universitetskaya emb. 7/9;

<sup>5</sup>Saint-Petersburg Scientific Center of RAS, Russia, St. Petersburg 199034 Universitetskaya emb., 5

<sup>6</sup>University of Liverpool, UK, Liverpool, L69 3BX

[a.matveenko@spbu.ru](mailto:a.matveenko@spbu.ru)

Baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* is a well-known eukaryotic model organism. Most of the common laboratory yeast strains ascend to the so-called "Berkeley yeast", specifically, the reference strain S288C. Since half a century ago, the Peterhof genetic collection (PGC) of *S. cerevisiae* provides a unique example of a large genetic collection established independently. First PGC strains ascend to a distillery lineage ("race XII"), which is unrelated to the Berkeley yeast. For many years, studies of translation, prion biology, and other fields have benefited from PGC, and several laboratory strains are now widely used throughout the world.

A tremendous progress has been achieved in recent years in next-generation sequencing (NGS) with hundreds of yeast genomes already sequenced and analysed. These genomes show extensive diversity, especially within wild or industrial strains unrelated to S288C. To place the PGC into known interrelations of yeast lineages we attempted whole genome sequencing of several strains using Ion Torrent NGS technology. The closest strain to the PGC progenitor, 15V-P4, was shown to differ greatly from other laboratory stocks and is more similar to the two bakery strains, YS9 and RedStar. The genomes of several other PGC strains have also been analysed. Strain 25-25-2V-P3982, thought to be of pure PGC origin, was shown to descend partially from Berkeley yeast. Coverage estimation in two clones of this strain suggested chromosome II disomy to be responsible for the  $Isp^-/Isp^+$  phenotype. Known descendants of both PGC and S288C-derived strains, 74-D694, 6P-33G-D373, 1B-D1606, and 222-1B-D1606, were also analysed. This allowed the identification of genomic variations that caused several phenotypic traits in these strains, e.g., clumping phenotype, phenylalanine auxotrophy, nonsense suppression caused by defective *SUP35* transcription, etc.

Despite the progress achieved, the obtained assemblies of the PGC genomes were incomplete and required substantial improvement. So we attempted genome sequencing of one PGC strain, 1A-D1628, using Oxford Nanopore MinION sequencing. Using the obtained reads we made a draft assembly that indeed comprises all yeast chromosomes and mtDNA. Further improvement of this assembly would provide a high quality reference for comparative genomic studies.

The work is supported by RCs "MCT" and "Biobank" of SPbSU, by the State research program 0112-2016-0015, by the RFBR grant 18-34-00536, and the RSF grant 18-14-00050.

## АННОТИРОВАНИЕ ГЕНОМОВ ПЛАНКТОМИЦЕТОВ: ГИГАНТСКИЕ ГЕНОМЫ ОБЕСПЕЧИВАЮТ ОГРОМНЫЙ ГЛИКОЛИТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

Наумов Д.Г.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

[daniil\\_naumoff@yahoo.com](mailto:daniil_naumoff@yahoo.com)

Планктомицеты (*Planctomycetes*) являются широко распространённой, но очень слабо изученной группой бактерий. Крайне мало известно об их метаболическом потенциале и роли в природных экосистемах, лишь ограниченное число этих микроорганизмов было получено в культурах и охарактеризовано. Поэтому особое значение для исследования планктомицетов приобретают методы сравнительной геномики. Нами были секвенированы полногеномные последовательности представителей двух разных семейств: *Isosphaeraceae* (*Paludisphaera borealis* PX4<sup>T</sup> [1]) и *Gemmataceae* (штамм PX52). Геном штамма PX4 имеет размер 7.7 Мб и содержит две плазмиды. В нём закодировано около 5800 белков. Среди них удалось идентифицировать свыше 250 ферментов синтеза и расщепления олиго- и полисахаридов, в том числе 134 белка, принадлежащих ранее известным семействам гликозил-гидролаз, гликозилтрансфераз, полисахаридлиаз и карбогидрат эстераз из базы данных CAZy (<http://www.cazy.org/>). Геном штамма PX52 имеет размер 9.4 Мб и кодирует около 8000 белков. Среди них свыше 250 ферментов синтеза и расщепления углеводов, из которых 136 белков принадлежат семействам из CAZy.

Обнаружено существование общего пула ферментов этой группы у всех изученных представителей семейства *Isosphaeraceae*, за исключением термофильного планктомицета *Isosphaera pallida* IS1B<sup>T</sup>, имеющего редуцированный геном. В то время как штамм PX52 обладает существенно более богатым репертуаром соответствующих ферментов в сравнении с другими представителями семейства *Gemmataceae*, что указывает на очень большую роль горизонтальных переносов. На основании дальних эволюционных связей в обоих штаммах дополнительно выявлено более чем по сто потенциальных ферментов синтеза и расщепления углеводов, не относящихся к ныне существующим семействам CAZy. Полученные данные продемонстрировали очень высокий, но частично ещё нераскрытый гликолитический потенциал планктомицетов. Одно из таких семейств гипотетических гликозил-гидролаз – TIGR02604 – недавно детально изучено [2].

[1]. Ivanova A.A., Naumoff D.G. et al., Comparative genomics of four *Isosphaeraceae* *Planctomycetes*: a common pool of plasmids and glycoside hydrolase genes shared by *Paludisphaera borealis* PX4<sup>T</sup>, *Isosphaera pallida* IS1B<sup>T</sup>, *Singulisphaera acidiphila* DSM 18658<sup>T</sup>, and strain SH-PL62. // 2017, *Frontiers in Microbiology*, V.8, Art.412.

[2]. Наумов Д.Г., Дедыш С.Н., Малоизученные группы бактерий – источник новых ферментов: β-галактозидазы из планктомицетов и веррукомикробий. // 2018, *Микробиология*, Т.97, С. 695-705.

## TANDEM REPEATS IN MAMMALIAN GENOMES

Ostromyshenskii D.I.<sup>1</sup>, Podgornaya O.I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology RAS, Saint Petersburg, Russia; <sup>2</sup> Saint Peterburg State University, Saint Petersburg, Russia

[necroforus@gmail.com](mailto:necroforus@gmail.com)

Tandemly repeated sequences are the DNA class, which is absent in prokaryote but appear in eukaryotes. Tandem repeats (TR, or satellite DNA) is the mostly fast evolving genome component. It is impossible to determine TR role and functions in the genome housekeeping without their classification and annotation. We are going to classify TR in the mammalian genomes available in databases and to check the pattern of TR evolution *in silico*. The modified pipeline of the one used previously in our Lab [1] applied to the several mammalian genomes. Totally we searched TR in assembled genomes of 57 species of 11 mammalian orders. For each genomes we accounted consensus sequence of each TR family, monomers length, GC-content and variability within the TR arrays. For *M. musculus*, *C. griseus*, *M. auratus* and *S. scrofa* we confirmed *in silico* prediction by molecular biology methods such as FISH and PCR. We found full sets of TR in 57 mammalian genomes assembly. Comparison of sets of TR in the different genomes showed that despite different primary sequences of TR of different genomes, the distribution of TR within each genome according to GC-content, monomer length and variability within the TR arrays is similar. Almost in all genomes, the family of major TR has been found. In different groups of mammals, it can be formed as AT-rich TR (for example, rodents and primates) or GC-rich TR (for example, carnivorans and artiodactyls), but always it is characterized by organization in high order repeats, long monomers, centromeric-pericentromeric localization. The second family of TRs by representation in genome is often formed by TR with a relatively short monomer, more complex arrays and has chromosome-specific variants (for example, the HS1-4 human satellite or the mouse TRPC-21A family). By comparison of the TR set from the genomes we show that the TR fields distribution is similar in the genomes. Such a set reflects the “bar-code”, which predetermine the hierarchy of chromosome domains associations. We expect that heterochromatic “bar-code” made up of the TR could be the base for the hypothetical General Morphogenetic program attributed to the heterochromatin.

[1]. A.S. Komissarov, et al. Tandemly repeated DNA families in the mouse genome //2011, BMC genomics, V.12, P.531-552.

**Acknowledgements:** This work was supported by the granting program of RFBR (No. 18-34-00238) and the granting program ‘Molecular and cell biology’ of the RAS (No. 01.2.01457147).

## MOLECULAR CHARACTERIZATION OF CLINICAL *LEISHMANIA* MAJOR ISOLATES HARBORING *ITS1* HOMOLOGY WITH THE ONE IN *CRITHIDA* SPP.

Maybodi M. A<sup>1</sup>., Eslami G<sup>1</sup>., Tohidfar M<sup>2</sup>., Bafghi A. F<sup>3</sup>., Hosseini S. S<sup>1</sup>., Ahmadian S. <sup>1</sup>,  
Elloumi M. <sup>4</sup>

<sup>1</sup>Research Center for Food Hygiene and Safety, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

<sup>2</sup>Department of Biotechnology, Faculty of Life Science and Biotechnology, Shahid Beheshti University, G.C. Tehran, Iran

<sup>3</sup>Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

<sup>4</sup>Professor, Laboratory of Technologies of Information and Communication and Electrical Engineering (LaTICE), University of Tunis, Tunisia

[eslami\\_g2000@yahoo.com](mailto:eslami_g2000@yahoo.com)

Leishmaniasis is caused by the protozoan *Leishmania* spp. In some loci from Iran, some isolates have *ITS1* like the one in *Crithidia* spp. [1]. Therefore, in this study, we analyzed molecular characters of the mentioned isolates. DNA was extracted from all clinical isolates harboring *ITS1* like the one in *Crithidia* spp. Amplification was performed using the specific primer pair of 13A/13B and followed by sequencing. The sequences were assessed using BLASTn, multiple alignment, T-coffee, and Vector NTI. Phylogenetic tree was used for grouping and analyzing the isolates. Sequencing analyzing showed low heterogeneity among the mentioned isolates but high heterogeneity between the mentioned isolates and the ones in Genbank, therefore the mentioned isolates were grouped separately. Also, although *ITS1* from the mentioned isolates were homolog to the ones in *Crithidia* spp. but 13A/13B loci on mitochondria showed homology with *Leishmania*. As *Crithidia* is a monoxenous and its natural host is flies, therefore finding its genes in the agents of cutaneous leishmaniasis may show these parasites may meet each other in sandfly. Till now, no sexual reproduction has been reported in *Leishmania* spp., therefore it is likely recombinant.

References:

[1] Eslami G., Salehi R., Khosravi S., Doudi M. Genetic analysis of clinical isolates of *Leishmania major* from Isfahan, Iran. J. Vector Borne Dis., 2012, 49(3): 168-174.

**Acknowledgment:** Authors thank from Shahid Sadoughi University of Medical Sciences from the financial supports.

## PROTEIN FAMILY RECONSTRUCTION BASED ON LARGE PROKARYOTIC SEQUENCE DATASETS

Brückner J.<sup>1</sup>, Roettger M<sup>2</sup>, Martin W.F<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute for Molecular Evolution, Heinrich-Heine-University Düsseldorf,  
D-40225 Düsseldorf, Germany*

<sup>2</sup>*Institute for Computational Cell Biology, Heinrich-Heine-University Düsseldorf,  
D-40225 Düsseldorf, Germany*

*julia.brueckner@hhu.de*

The concept of a universal tree of life has been an important part of evolutionary studies since the proposition of one by Darwin in 1859. Unfortunately, there are processes that are not tree-like and complicate the study of evolutionary ancestry. Thus, all the information inherent in sequence data of the organisms has to be explored as compared to studies of universal proteins only. The method optimized in the course of this thesis is the fundament of analyses applying all genes of all prokaryotic organisms to generate comprehensive protein families.

The present dataset contains protein sequences from 5,655 complete prokaryotic genomes separated into 212 archaea and 5,443 bacteria. Collectively, these organisms include a total of 19,050,992 protein sequences obtained from the RefSeq genomes database of the NCBI. In order to recreate protein families, all-vs-all local pairwise sequence alignments employing BLAST were calculated and subsequently filtered for reciprocal best BLAST hits (rBBH) in order to regard only orthologous sequences. These sequence pairs were applied to the Markov Cluster Algorithm (MCL) to recreate protein families. This procedure was greatly complicated by the amount of sequence data and needed to be optimised, as the BLAST comparisons resulted in over 312.6 billion sequence pairs ( $E \text{ value} \leq 10^{-5}$ ) amounting to 33 TB of hard disk space.

Filtering the hits for rBBH and high significance ( $E \text{ value} \leq 10^{-10}$  & global identity  $\geq 25\%$ ) reduced the number of sequence pairs applied to MCL to 11.4 billion. This extensive number of sequence pairs resulted in very low jury grades that are calculated by MCL. Therefore, the pruning parameters were adjusted which resulted in the doubling of internal memory demand and calculation time. The matrices computed during the final clustering required almost 1 TB of internal memory, by utilising 36 cores. The clustering finished within six days by achieving an almost perfect jury grade of 91.2 out of 100. A decent compromise to reduce resource requirements might be to increase the MCL inherent pruning parameters until a jury grade of about 50 to 60 is achieved. Finally, the 19,050,992 sequences fell into 463,542 protein families. From these protein clusters, phylogenetic trees can be calculated for further analyses.

## TAKE YOUR PICK: HOW PLANTS FIGHT CLIMATE CHANGE BY HYBRIDIZATION

Thomas A.,<sup>1</sup> Gruenheit N.<sup>1</sup>, Lockhart P<sup>2</sup>., Martin W. F<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Heinrich-Heine-University, Germany, Duesseldorf, Universitaetsstrasse 1, 40225 Duesseldorf;

<sup>2</sup>Institute for Fundamental Sciences, Massey University, Palmerston North, New Zealand

[Alexander.thomas@hhu.de](mailto:Alexander.thomas@hhu.de)

The cosmopolitan genus *Ranunculus*, the common buttercup, harbours more than 600 known species, which occupy very distinct ecological niches. However, plants from different niches are often still able to hybridize leading to the emergence of allopolyploid hybrid plants. Due to this blending of traits, these hybrids are often able to venture into new habitats making hybridization an important mechanism in adaptive radiation. Here, we test a hypothesis of evolution by niche shift, a prediction of adaptive radiation for the New Zealand alpine *Ranunculus*. We report evidence that formation of the allopolyploid species *R. nivicola* has expanded the range of this alpine plant group into North Island habitat that is distinct to that occupied by the extant descendants of the parental species.

For this, we *de novo* assembled transcriptomes of the two most likely parental species (*R. verticillatus* and *R. insignis*) and *R. nivicola* using TRINITY. Then, we analysed the assembled contigs further to identify homologs between species (~80.000), paralogs within species (~18.000) and homeologs (~400) within the hybrid species.

By comparing the homeologous sequences to the parental species, we aim to identify the origin of the homeologous pairs in the allopolyploid *R. nivicola*, classify their function and observe evolutionary adaptation on environmental commodities such as drought, flood, and temperature variations.

## CHARTING THE GENE SET OF THE LAST UNIVERSAL COMMON ANCESTOR

Weiss M. C.<sup>1</sup>, Martin W.F.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Molecular Evolution, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Germany;* <sup>2</sup> *Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Oeiras, Portugal.*

*m.weiss@hhu.de*

We have been investigating the nature of the last universal common ancestor, LUCA using genomes. Our question has been which genes LUCA contained as inferred from the gene collection present in 134 archaeal and 1.847 bacterial genomes. Our approach was not to look for genes that are universally distributed, but instead to look among all genes to find those that trace to the ancestor of archaea and bacteria by phylogenetic criteria. From 6.103.411 genes we found 11.093 gene families (clusters) that occur in archaea and bacteria. Most of those 11.093 generate trees indicating that the transdomain distribution was due to lateral gene transfer (LGT). When we exclude cases of LGT, what remain are 355 genes that trace to LUCA. In contrast to genes that are universal across genomes, these genes contain information about microbial physiology. They allowed us to make a number of inferences about where LUCA lived and what it lived from [1]. The results reconstructed LUCA as a strictly anaerobic proto-organism that was half alive and that lived from gasses: CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, CO, and H<sub>2</sub>S. We have now expanded this analysis to encompass 212 archaeal and 5.443 bacterial organisms. Based on phylogenetic criteria we have investigated the larger dataset in which fused genes were separated and new protein families were generated.

[1] Weiss M.C., Sousa F.L., Mrnjavac N., Neukirchen S., Roettger M., Nelson-Sathi S., Martin W.F., The physiology and habitat of the last universal common ancestor. // 2016, Nat. Microbiol., V. 1, P. 16116.

## COUNT DOES NOT RECOVER MAJOR EVENTS OF GENE FLUX IN REAL BIOLOGICAL DATA

Kapust N<sup>1</sup>., Nelson-Sathi S<sup>2</sup>., Schönfeld B. <sup>3</sup>, Hazkani-Covo E.<sup>4</sup>, Bryant D. <sup>5</sup>, Lockhart P.J.  
<sup>6</sup>, Röttger M.<sup>1</sup>Xavier, J.C. <sup>1</sup>, Martin W. F. <sup>1,7</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Molecular Evolution, Heinrich Heine University, Düsseldorf, Germany;*  
<sup>2</sup>*Computational Biology & Bioinformatics Group, Rajiv Gandhi Centre for Biotechnology, Trivandrum, Kerala, India;* <sup>3</sup>*School of Zoology, University of Tasmania, Private Bag 5, Hobart, Tasmania 7001, Australia;* <sup>4</sup>*Department of Natural and Life Sciences, The Open University of Israel, Ra'anana 43107, Israel;* <sup>5</sup>*Department of Mathematics and Statistics, University of Otago, Dunedin 9054, New Zealand;* <sup>6</sup>*Institute of Fundamental Sciences, Massey University, Palmerston North 4474, New Zealand;* <sup>7</sup>*Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Oeiras, Portugal.*

In prokaryotes, lateral gene transfer generates new combinations of genes among chromosomes via known mechanisms (transformation, transduction, conjugation and gene transfer agents) during evolution. In the eukaryotic host lineage, descended from archaea, lateral gene transfer occurs from organelles to the nucleus at endosymbiotic events. Current genome analyses focusing on gene distributions have shown evidence for sporadic, discontinuous events of gene transfer from bacteria to archaea during evolution. Other studies investigating prokaryote genome evolution have used traditional birth-and-death phylogenetic models to claim that gene transfer to archaea was continuous during evolution, rather than involving occasional periodic mass gene influx events. Here we test the ability of Count and its birth-and-death analysis to recover known events of mass acquisition and differential loss using plastid genomes and eukaryotic protein families that were acquired from plastids. Count showed a strong bias towards reconstructed histories with gene acquisitions distributed uniformly across the tree. Several different acquisitions by plastid DNA were sometimes inferred for the same protein family. That is, Count recovered gradual and continuous lateral gene transfer among lineages, although massive gains followed by gradual differential loss is the probable true evolutionary process that generated the gene distribution data.

## DIVERSITY AND PROTEIN EVOLUTION OF 79 SPECIES PANGENOMES DERIVED FROM A MULTI-SPECIES CLUSTERING

Nagies F. S. P.<sup>1</sup>, Grünheit N.<sup>1</sup>, Nelson-Sathi S.<sup>2</sup>, Martin W. F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Molecular Evolution, Heinrich-Heine-University, Germany, Düsseldorf, Universitätsstr. 1 40225 Düsseldorf,*

<sup>2</sup>*Computational Biology & Bioinformatics Group, Rajiv Gandhi Centre for Biotechnology, India, Trivandrum*

*Falk.nagies@uni-duesseldorf.de*

The generation and analysis of pangenomes is a powerful tool to explore the extraordinary variability of prokaryotic species. Here, a multi-species clustering based on the RefSeq 2016 September release was used to compare the pangenomes of 79 bacterial species. Comparing the open or closed pangenome labels, a common way to describe pangenome variability, revealed discrepancies between the species pangenomes and the literature as well as among different published studies. Therefore, a measure called ‘strain diversity’ was developed, which is based on the similarity in gene content of strain sub-populations. This measure showed results aligning better with the expectancy of a species according to its ecology, for example, whether the species is known to frequently exchange genes with other species. On top of this, we identified core clusters, in which all strains of a species are present, and accessory clusters, made up of only a fraction of strains, for each of the 79 species. We then used these data to calculate the average pairwise difference of two sequences drawn from the cluster. Altogether, core clusters generally evolve slower than accessory clusters. Furthermore, intraspecies comparisons of protein families in these different types of clusters also revealed that proteins in core clusters generally evolve slower for 74 of the 79 species, whereas three species, mostly notably *Clostridium botulinum*, had a slower evolving accessory genome.

## IDENTIFICATION OF LATERAL GENE TRANSFERS AMONG PROKARYOTIC PROTEIN FAMILIES

Wimmer J.L.E.<sup>1</sup>, Knopp M.<sup>1</sup>, Martin W.F.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Molecular Evolution, Heinrich-Heine-University, Duesseldorf, Germany*

<sup>2</sup>*Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Oeiras, Portugal*

*jessica.wimmer@hhu.de*

The traces for the emergence of early microbial life date to around 3.8 billion years ago [1]. Since then, evolution expanded biodiversity extensively. While prokaryotes multiply clonally, genetic variation is increased by lateral gene transfer (LGT) to escape Muller's ratchet [2]. The essential mechanisms of LGT are known — transduction, transformation, conjugation via plasmids, nanotubes and gene transfer agents. However, the frequency of LGT between entities remains hard to determine. Recent large-scale analyses of gene distributions reveal that LGT is a driving force for prokaryotic evolution, and indicate that particular cases of episodic LGT were liable for the emergence of the eukaryotic domain [3].

In this work, a broad phylogenetic analysis of 19,050,992 protein sequences from 5,655 fully sequenced genomes was performed to uncover and characterise putative laterally transferred genes among prokaryotes. Pairwise sequence comparisons were carried out to find homologous genes. The identified homologues were then used to reconstruct protein families, using the Markov clustering algorithm, resulting in over 450,000 protein families. We examined distantly related genes among the organisms within a respective protein family, followed by a topological analysis of reconstructed phylogenetic trees, both indicating a possible LGT scenario. The identified LGT candidate genes were functionally annotated and functional categories significantly enriched in the candidate set were found, including membrane transport, genetic information processing and metabolism. Additionally, the pattern of gene distribution was analysed to estimate LGT-frequencies between all phyla, revealing pairs of elevated transfer rates, especially within the archaeal domain.

[1]. Weiss M.C., Sousa F.L., Mrnjavac N., Neukirchen S., Roettger M., Nelson-Sathi S., Martin W.F., The physiology and habitat of the last universal common ancestor. // 2016, *Nature Microbiology*, V.1, P. 16116

[2]. Muller HJ. The relation of recombination to mutational advance. // 1964, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* V. 1, Pp. 2-9.

[3]. Ku C., Nelson-Sathi S., Roettger M., Sousa F.L., Lockhart P.J., Bryant D., Hazkani-Covo E., McInerney J.O., Landan G., Martin W.F., Endosymbiotic origin and differential loss of eukaryotic genes. // 2015, *Nature*, V.524, Pp. 427-432.

## АНАЛИЗ ИНФОРМАТИВНОСТИ *in silico* ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ ПРИ ОЦЕНКЕ КЛИНИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МИССЕНС-ВАРИАНТОВ ГЕНОВ КОННЕКСИНОВ *GJB2* (Cx26), *GJB6* (Cx30) И *GJB3* (Cx31)

Пшенникова В.Г.<sup>1,2</sup>, Барашков Н.А.<sup>1,2</sup>, Романов Г.П.<sup>1,2</sup>, Соловьев А.В.<sup>1,2</sup>, Готовцев Н.Н.<sup>1,2</sup>, Никанорова А.А.<sup>1,2</sup>, Терюгин Ф.М.<sup>1,2</sup>, Находкин С.С.<sup>2</sup>, Сазонов Н.Н.<sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>3,4</sup>, Посух О.Л.<sup>5,6</sup>, Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Россия, г. Якутск, <sup>2</sup> Институт естественных наук Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова, Россия, г. Якутск, <sup>3</sup> Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, г. Уфа, <sup>4</sup> Башкирский государственный университет, Россия, г. Уфа, <sup>5</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, г. Новосибирск, <sup>6</sup> Новосибирский государственный университет, Россия г. Новосибирск, [psennikovavera@mail.ru](mailto:psennikovavera@mail.ru)

В настоящее время, для оценки возможного влияния аминокислотных замен на структуру и/или функцию белка, в отсутствие структурно-функциональных исследований, используют прогностический подход *in silico*, который полностью осуществляется симуляционными компьютерными программами. Однако, их предсказательная точность может широко варьировать, поскольку алгоритм прогнозирования клинической значимости вариантов (эволюционная консервативность и/или структура/функция белка) каждой отдельной программы осуществляется с применением различных вычислительных методов и инструментов. В данной работе, были выявлены *in silico* программы с наиболее точными прогнозами клинической значимости миссенс-вариантов генов коннексинов *GJB2* (Cx26), *GJB6* (Cx30) и *GJB3* (Cx31), обуславливающих аутосомно-рецессивную глухоту 1А типа. Протестировано 9 наиболее популярных *in silico* предсказательных программ, на основе 9 миссенс-вариантов генов *GJB2* (Cx26), *GJB6* (Cx30) и *GJB3* (Cx31) с хорошо установленной клинической значимостью, обнаруженных в масштабной выборке глухих пациентов и контрольных группах из Якутии [1, 2]. Был проведен сравнительный анализ параметров информативности программ: точность (Ac), чувствительность (Se) и специфичность (Sp). В качестве альтернативных методов анализа качества программ, были произведены расчеты коэффициента корреляции ( $r$ ) и площади под ROC-кривой. В целом, из 9 проанализированных программ наиболее точные предсказательные *in silico* оценки клинической значимости изученных миссенс-вариантов были показаны двумя программами - SIFT и PROVEAN (Ac = 89%, Se = 67%, Sp = 100%,  $r = 0,75$ ; AUC = 0,833,  $p = 0,046$ ). Результаты данного исследования могут быть применимы для анализа новых миссенс-вариантов, обнаруженных в генах *GJB2*, *GJB6* и *GJB3*.

[1]. Barashkov N.A., Pshennikova V.G., Posukh O.L., et al., Spectrum and Frequency of the *GJB2* Gene Pathogenic Variants in a Large Cohort of Patients with Hearing Impairment Living in a Subarctic Region of Russia (the Sakha Republic). // 2016, PLoS One. V. 11(5):e0156300.

[2]. Пшенникова В.Г., Барашков Н.А., Соловьев А.В., и др., Поиск мутаций в генах *GJB6* (Cx30) и *GJB3* (Cx31) у глухих пациентов с моноаллельными мутациями гена *GJB2* (Cx26) в Якутии. // 2017, Генетика. Т.53. №6. С.705-716.

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки №6.1766.2017 ПЧ; при поддержке грантов РФФИ (17-29-06-016\_офи\_м, 18-015-00212\_А, 18-013-00738\_А, 18-334-00439\_мол\_а, 18-05-600035\_Арктика) и биобанка ЯНЦ КМП (БРК: 0556-2017-0003).

**Симпозиум IV: Генетика человека / Symposium IV: Human Genetics****СЛУЧАЙ ДИАГНОСТИКИ У ОДНОГО ПАЦИЕНТА ДВУХ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ – РАБДОМИОЛИЗА И ПОЯСНО-КОНЕЧНОСТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ДИСТРОФИИ 2А ТИПА**

Акимова И.А., Боровиков А.О., Дадали Е.Л.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»; Российская Федерация, Москва, ул. Москворечье, д. 1, 115522

[akimova@med-gen.ru](mailto:akimova@med-gen.ru)

**Цель:** представить описание клинико-генетических характеристик редкого сочетания двух наследственных нервно-мышечных заболеваний, сопровождающихся поражением мышц.

**Материалы и методы:** секвенирование экзона проводилось на платформе IlluminaNextSeq 500 с применением методики таргетного обогащения ДНК TruSightOne V1.1. и обработкой полученных данных в лаборатории ДНК-диагностики МГНЦ.

**Результат:** При проведении экзомного секвенирования нового поколения у девочки 5 лет с уровнем креатинфосфокиназы (КФК) 131200 Ед/л (норма до 150 Ед/л) в анамнезе и жалобами на боль в мышцах нижних конечностей выявлена ранее описанная как патогенная замена в гене *SPT2* в гетерозиготном состоянии с.1025T>C. Мутации в этом гене ответственны за развитие трех клинических фенотипов, в том числе, стресс-индуцированной недостаточности карнитин-пальмитоил-трансферазы-2 миопатического типа (ОММ: 255110), характерной особенностью которого являются транзиторное стресс-индуцированное повышение уровня КФК, обусловленное недостаточностью вышеупомянутого фермента. Кроме того, у девочки были выявлены 2 ранее описанные как патогенные замены в гене *CAPN3*. Мутации в этом гене приводят к развитию поясно-конечностной мышечной дистрофии 2А типа (ПКМД2А). В клинической картине у ребенка на момент осмотра (спустя месяц после появления жалоб на боли в ногах и повышения уровня КФК) не выявлено очаговой неврологической симптоматики, локтевые, коленные и ахилловы рефлексы живые, приёмов миопата (Говерса) девочка не использовала. При верификации выявленных замен методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру у девочки подтвердились все три замены, а у родителей выявлено по одной замене в гене *CAPN3*, что согласуется с аутосомно-рецессивным типом наследования и позволяет считать все три причинами заболевания у девочки, принимая во внимание тот факт, что ПКМД2А может дебютировать в возрасте до 30 лет.

**Заключение:** использование экзомного секвенирования нового поколения позволяет уточнить диагноз на молекулярно-генетическом уровне и в значительной степени облегчает диагностику редких генетических заболеваний, в том числе на доклиническом уровне.

## ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *GSTP1* В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕЭКЛАМПСИИ У ПРЕДСТАВИТЕЛЬНИЦ РОСТОВСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Бордаева О.Ю.

ГБУ РО «Перинатальный центр»

[bordaeva@mail.ru](mailto:bordaeva@mail.ru)

Преэклампсия (ПЭ) является одним из социально значимых осложнений в акушерстве, в основе которого лежит патология сосудистой системы организма беременной женщины. В мире частота ПЭ варьирует от 6 до 20 %, тогда как в России ПЭ встречается примерно у 11 - 16 % беременных и занимает 3-е место среди причин материнской смертности. На сегодняшний день этиология и патогенез ПЭ до конца не изучены. Наиболее актуальным из множества существующих представляется механизм, в развитии которого принимают участие как генетические, так и средовые факторы.

Идентификация генов, вовлеченных в развитие ПЭ, является важной медико-генетической задачей, решение которой будет способствовать формированию фундаментальных представлений об этиологии и патогенезе этого заболевания. Среди более 100 полиморфных вариантов генов показана ассоциация полиморфизмов гена *GSTP1*, контролирующего детоксикацию ксенобиотиков, с повышенным риском развития ПЭ. Результаты исследований данной ассоциации разных авторов неоднозначны, что может быть связано с различной этнической принадлежностью обследованных. Для выявления групп высокого риска по развитию преэклампсии принципиально важно определить диагностически значимые аллельные варианты генов для своевременной терапии, направленной на предупреждение данного осложнения беременности.

Целью настоящего исследования является изучить полиморфизмы гена *GSTP1* (глутатион-S-трансферазы) у женщин с ПЭ и женщин с физиологическим течением беременности. В условиях ГБУ РО «Перинатальный центр» обследованы 101 беременная женщина в сроке от 24 до 36 недель гестации, которые были разделены на две группы: группа женщин с ПЭ и контрольная. ПЭ диагностировалась согласно Клиническим рекомендациям «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» (2013). Контрольную группу составили 48 женщин с неосложненным течением беременности. Все обследованные являлись жительницами Ростовской области.

Выделение тотальной геномной ДНК из 100 мкл цельной периферической крови проводили экспресс методом с использованием набора «Проба-Рapid-Генетика» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Однонуклеотидные полиморфизмы определялись методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием реагентов ООО «НПО ДНК-Технология», Россия. Используемое оборудование амплификатор детектирующий ДТ лайт (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Статистический анализ проводили с помощью калькулятора для расчета статистики в исследованиях «случай-контроль». Рассчитывали показатель отношения шансов (OR), приводя 95 % доверительный интервал (95 % CI). Статистически значимыми считали результаты при достоверности  $p < 0,05$ .

Установлено, что при ПЭ содержание плацентарной пи-1 глутатион-S-трансферазы, фермента фазы II детоксикации и продукта гена *GSTP1*, снижено в плаценте и в децидуальной тканях. Полиморфизмы гена *GSTP1* обусловлены заменой нуклеотидов в положениях 313 (*GSTP1* 313 A>G) или 341 (*GSTP1* 341 C>T), что приводит к появлению 3

функционально различных форм фермента GSTP1 а, b, с. Мутантные формы b и с функционально менее активны, что приводит к увеличению накопления в организме токсичных веществ. Имеются данные о связи генотипа 1b/1b GSTP1 с ПЭ. В наших исследованиях установлено, что аллельные частоты и частоты мутантных генотипов не обнаруживают достоверную ассоциацию с ПЭ. Согласно полученным результатам, частота аллеля G достигает 38 % у больных ПЭ и 34 % у здоровых лиц. Частота аллеля T в исследованной группе больных женщин равна 13 %, тогда как в контрольной группе составила 16 %. Доля генотипа GG в группе больных составила 1 %, в контрольной – также 1 %. Гомозиготы по аллелю T были зарегистрированы у менее 1 % лиц как с ПЭ, так и контрольной группы.

Таким образом, в ходе нашего исследования показано, что носительство мутантных аллелей 313G и 341T гена GSTP1 не увеличивает риск развитие ПЭ у представительниц ростовской популяции (OR = 1.16 (95% CI: 0.65 – 2.06) и 0.82 (95% CI: 0.37 – 1.81) соответственно).

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНИРОВАННОСТЬ УСПЕШНОСТИ ОСВОЕНИЯ ЭЛЕКТРОМИОГРАФИЧЕСКОГО ИНТЕРФЕЙСА

Виткалова И.Ю.<sup>1</sup>, Гуреев А.П.<sup>1</sup>, Туровский Я.А.<sup>2,3</sup>, Попов В.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра генетики, цитологии и биоинженерии, Медико-биологический факультет, Воронежский государственный университет; Россия, 394018, г. Воронеж, Университетская площадь, 1

<sup>2</sup>Лаборатория медицинской кибернетики, Факультет компьютерных наук, Воронежский государственный университет; Россия, 394018, г. Воронеж, Университетская площадь, 1

<sup>3</sup>Институт проблем управления им. В. А. Трапезникова Российской академии наук; Россия, 117997, г. Москва, ул. Профсоюзная, д. 65

[vitkalovai@inbox.ru](mailto:vitkalovai@inbox.ru)

Электромиографический интерфейс - система управления, основанная на детекции команд генерируемых человеком посредством электрической активности мышц. Мы предполагаем, что успешность освоения интерфейса может быть детерминировано особенностями генотипа оператора.

В ходе проведенных исследований мы выявили связь полиморфизма rs10119 в гене ТОММ40 с успешностью освоения электромиографического интерфейса ( $p < 0.05$ ), но различий в точности генерации команд этих уровней выявлено не было. Таким образом, полиморфизм в гене ТОММ40 имеет связь с концентрацией внимания, но не связан с переключением внимания.

Наличие Т-аллеля в полиморфизме rs6313 давало значимо более высокую ( $p < 0.001$ ) скорость переключения между генерациями команд разного уровня. Это обеспечивает лучшее овладение электромиографическим интерфейсом, как в аспекте генерации команд, так и в аспекте переключения между последовательными разными командами.

Анализ субъективных шкал времени показал, что люди с наличием Т-аллеля значимо ( $p < 0.001$ ) завышали субъективное время выполнения задания для данного интерфейса по сравнению с пользователями имеющими С-аллель.

Такие результаты могут объясняться тем, что С-аллель полиморфизма rs6313 является одним из факторов, увеличивающих экспрессию 5'-нетранслируемой области гена HTR2A. Что в свою очередь приводит к увеличению эффективности трансляции этого гена, который является основным возбуждающим подтипом рецепторов среди всех G-белок-сопряжённых подтипов рецепторов для серотонина. Вероятно, что в связи с увеличением импульсивности снижается число правильно поданных команд в рамках электромиографического интерфейса у носителей С-аллеля.

Так же точность работы с электромиографическим интерфейсом продемонстрировал и полиморфизм rs4290270 гена TRN2. Носители гомозиготного генотипа имели значимое ( $p < 0.01$ ) преимущество в точности работы перед носителями гетерозиготного генотипа, обеспечивая практически 80% точность достижения цели.

Таким образом, мы выявили, что полиморфизмы rs6313, rs10119, rs4290270 связаны с успешностью освоения электромиографического интерфейса.

Данная работа была выполнена при поддержке гранда РФФИ 17-29-02505 офи\_м.

## EXPRESS TEST FOR PREECLAMPSIA DIAGNOSTIC

Gerasimova E.<sup>1</sup>, Kulichikhin K. Yu.<sup>1</sup>, Fedotov S.A.<sup>1</sup>, Rubel A.A.<sup>1</sup>, Vashukova E.S.<sup>3</sup>, Pakin V.S.<sup>2</sup>, Glotov A.C.<sup>3</sup>, Chernoff Yu.O.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg State University, Laboratory of Amyloid Biology, St. Petersburg, Russia, 199034

<sup>2</sup>FSBSI "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O.Ott" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 199034

<sup>3</sup>FSBSI "The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O.Ott", 199034, Resource Centre "Biobank", 198504

<sup>4</sup>Georgia Institute of Technology, School of Biological Sciences, Atlanta, Georgia, USA, GA 30332-2000

[kantellis@mail.ru](mailto:kantellis@mail.ru)

Preeclampsia (PE) is a human-specific pregnancy disorder of unknown etiology and a leading contributor to maternal and perinatal mortality worldwide [1]. The clinical symptoms appear after 20 weeks of gestation and include hypertension and proteinuria. If left untreated, patients may have a progressive clinical deterioration resulting in eclampsia, stroke, kidney damage, liver failure, and death. Nowadays there is no cure other than delivery and no reliable laboratory diagnostic methods of this disease.

Earlier Buhimschi et al. (2014) found amyloid-like aggregates in the placenta and urine samples of pregnant women with PE. Besides, the urine samples exhibit congophilia, affinity for the amyloidophilic dye Congo Red (CR). The researchers report that the urine congophilic material includes proteins like SERPINA1, albumin, and Alzheimer's  $\beta$ -amyloid. They designed a simple method (Congo Red Dot (CRD) test) that consists of mixing urine with a solution of Congo red, spotting in duplicate on a strip of nitrocellulose membrane and washing in increasing concentration of methanol. The CRD procedure carries diagnostic and prognostic potential for preeclampsia.

In our research, the CRD procedure proposed by Buhimschi et al. was optimized and applied for the following investigations. We have estimated the efficiency of CRD test dye to confirm and clarify the diagnosis of PE. Using the CRD test, we analyzed the urine samples of pregnant women with PE ( $n = 25$ ) and control groups ( $n = 36$ ). Each sample was analyzed in three replicates. For each sample, we have calculated the Congo red retention (CRR). CRR is a measure of congophilia as the redness of spots after removing unbound CR. It was found that CRR in cases of women with PE is statistically higher compared with the control group. The range of CRR values appropriate for PE diagnosis was determined. Now, the development of a new test for express PE diagnostic was started.

### References

[1] Buhimschi I.A., Nayeri U.A., Zhao G., Shook L.L., Pensalfini A., Funai E.F., Bernstein I.M., Glabe C.G., Protein misfolding, congophilia, oligomerization, and defective amyloid processing in preeclampsia. // 2014, *Sci Transl Med.* 6, 245ra92

[2] Salvadores N., Shahnawaz M., Scarpini E., Tagliavini F., Soto C., Detection of misfolded A $\beta$  oligomers for sensitive biochemical diagnosis of Alzheimer's disease. // 2014, *Cell Rep.* 7, 261–268

## ПОВЫШЕННАЯ ЭКСПРЕССИЯ мРНК ИЗОФОРМ ТРАНСКРИПТОВ II ЭКЗОНА ГЕНА *HTR2A* – БИОМАРКЕР РАЗВИТИЯ РАССТРОЙСТВ ШИЗОФРЕНИЧЕСКОГО СПЕКТРА

Грунина М.Н.<sup>1</sup>, Заботина А.М.<sup>1,2</sup>, Белинская М.Н.<sup>1</sup>, Журавлев А.С.<sup>1</sup>, Насырова Р.Ф.<sup>3</sup>, Тараскина А.Е.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Россия, Ленинградская обл., г. Гатчина, мкр. Орлова роща, д.1; <sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д.6-8; <sup>3</sup>Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии имени В.М. Бехтерева, Россия, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д.3.

[by2306@mail.ru](mailto:by2306@mail.ru)

Альтернативный сплайсинг – ключевой механизм, обеспечивающий функциональное разнообразие белков. Расстройства шизофренического спектра (РШС) – превалирующие психические заболевания, нуждающиеся в антипсихотической фармакокоррекции. Альтернативные формы транскриптов генов нейротрансмиссии играют важную роль в нормальном развитии мозга в ходе онтогенеза [1]. Рецептор серотонина 2А (5-*HTR*<sub>2A</sub>) вовлечен в патогенез РШС и является «мишенью» действия атипичных антипсихотиков. мРНК *HTR2A* претерпевает альтернативный сплайсинг на участке между первым и вторым экзонами с образованием изоформ Etr, E2- и E2+ [2]. Так как лимфоциты периферической крови (ЛПК) экспрессируют рецепторы биогенных аминов, вовлечены в периферическое звено патогенеза РШС и подвержены системному действию антипсихотиков, их в настоящее время рассматривают как адекватный инструмент монитора антипсихотической фармакокоррекции [3].

**Цель исследования** – оценить относительный уровень сплайсинг вариантов мРНК экзона II гена *HTR2A* как потенциального маркера развития психических расстройств и ответа на антипсихотическую терапию.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 60 пациентов мужского пола (от 18 до 55 лет) с диагнозом РШС и 40 лиц контрольной группы. Эффективность терапии определяли по редукции суммарной шкалы PANSS. Материалом исследования служили ЛПК. Количественный анализ транскриптов II экзона *HTR2A* проводили методом ПЦР в реальном времени в присутствии EVA GREEN.

**Результаты.** Показано, что в группе РШС относительный уровень экспрессии всех изучаемых изоформ транскриптов был достоверно выше: для E2+ уровень мРНК составил 1,19 (0,85÷1,99) и 0,56 (0,25÷1,50) для пациентов с РШС и лиц контрольной группы,  $p=0,018$ ; для E2tr - 1,27 (0,74÷1,86) и 0,54 (0,35÷0,88),  $p = 0,007$ , и для E2- - 1,46 (0,9÷2,5) к 0,52 (0,31÷1,02) соответственно,  $p < 0,0001$ . При этом, в группе контроля уровень мРНК изучаемых изоформ между собой не имел достоверных различий (альтернативные изоформы экспрессировались на одном уровне с конститутивно экспрессируемой 2+). Когда как у пациентов с РШС, наблюдалось нарушение соотношения изоформ,  $p=0,034$ : количество мРНК альтернативной изоформы E2- превышало количество E2+ в 1,2 раза. Достоверного влияния сплайсинг вариантов *HTR2A* на эффективность фармакотерапии не наблюдалось.

**Выводы.** Развитие РШС ассоциировано с повышенной экспрессией и нарушением паттерна сплайсинг вариантов экзона II гена *HTR2A*.

**Благодарности:** работа была выполнена при поддержке РФФИ (грант № 18-315-00321).

1. Tao R., Davis K.N., Li C., Shin J.H., Gao Y., Jaffe A.E., Gondré-Lewis M.C., Weinberger D.R., Kleinman J.E., Hyde T.M. GAD1 alternative transcripts and DNA methylation in human prefrontal cortex and hippocampus in brain development, schizophrenia // Mol. Psychiatry. 2017. P. 1–10.



2. Ruble C.L., Smith R.M., Calley J., Munsie L., Airey D.C., Gao Y., Shin J.H., Hyde T.M., Straub R.E., Weinberger D.R., Nisenbaum L.K. Genomic structure and expression of the human serotonin 2A receptor gene (HTR2A) locus: identification of novel HTR2A and antisense (HTR2A-AS1) exons // BMC Genetics. 2016. V. 17. 16.
3. Buttarelli Francesca R., Fanciulli Alessandra, Pellicano Clelia, Pontieri Francesco E. The Dopaminergic System in Peripheral Blood Lymphocytes: From Physiology to Pharmacology and Potential Applications to Neuropsychiatric Disorders // Current Neuropharmacology — 2011. — N 9. — P.278-288.

## РОЛЬ ГЕНОВ АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ВАРИАЦИЯХ УРОВНЯ ДЕПРЕССИВНОСТИ

Давыдова Ю.Д.<sup>1</sup>, Казанцева А.В.<sup>1</sup>, Еникеева Р.Ф.<sup>1</sup>, Малых С.Б.<sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики, Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, Россия, Уфа, 450054, проспект Октября, 71, лит.1Е;

<sup>2</sup>Психологический институт Российской академии образования, Россия, Москва, 125009, ул. Моховая, 9, стр. 4; <sup>3</sup>Кафедра генетики и фундаментальной медицины, Башкирский государственный университет, Россия, Уфа, 450076, ул. Заки Валиди, 32

[julia.dmitrievna@list.ru](mailto:julia.dmitrievna@list.ru)

Несмотря на интенсивные молекулярно-генетические исследования, проводимые в течение последних десятилетий, этиология депрессивных расстройств остаётся не до конца изученной, что в определенной степени обусловлено сложностью взаимодействия генетических и средовых факторов. В связи с этим, цель данной работы заключается в оценке основного эффекта полиморфных локусов генов аргинин-вазопрессиновых рецепторов (*rs3803107* гена *AVPR1A* и *rs33911258* гена *AVPR1B*) и ген-средовых взаимодействий, в развитии депрессивности у психически здоровых индивидов.

В исследовании приняли участие 454 индивида (79% женщин) без наследственной отягощенности психическими заболеваниями из Республики Башкортостан и Удмуртской Республики (средний возраст  $19.60 \pm 1.76$  лет), из них русских – 165, удмуртов – 129, татар – 59, башкир – 29 и метисов – 72. Для определения уровня депрессивности была использована шкала депрессии Бека (Beck Depression Inventory, BDI). Генотипирование полиморфных локусов осуществлялось методом ПЦР в реальном времени. Статистическая обработка результатов включала линейный регрессионный анализ (PLINK v.1.07).

По результатам проведенного анализа распределение частот аллелей и генотипов полиморфных локусов *rs3803107* и *rs33911258* соответствовало распределению Харди-Вайнберга ( $p = 0.57$  и  $p = 0.61$ , соответственно). В результате линейного регрессионного анализа не было выявлено основного эффекта локусов *rs3803107* гена *AVPR1A* и *rs33911258* гена *AVPR1B* в вариации уровня депрессивности. Последующий стратификационный анализ, проведенный среди мужчин и женщин, показал, что в группе женщин носители аллеля *rs3803107 T* гена *AVPR1A* демонстрировали повышенную депрессивность на уровне тенденции ( $\beta = 1.43$ ,  $p = 0.058$ ,  $r^2 = 0.01$ ). Кроме того, было отмечено влияние сезона рождения и статуса курения на ассоциацию аллеля *rs3803107 T* с депрессивностью. Так, носители с аллеля *rs3803107 T*, родившиеся с сентября по ноябрь ( $\beta = 3.09$ ,  $p = 0.03$ ,  $r^2 = 0.04$ ) или индивиды с никотиновой зависимостью ( $\beta = 3.25$ ,  $p = 0.02$ ,  $r^2 = 0.05$ ) характеризовались более высоким уровнем депрессивности.

Таким образом, выявленные модели GxE взаимодействий могут указывать на возможные эпигенетические изменения, обусловленные действием таких средовых факторов как сезон рождения и никотиновая зависимость, детерминирующие индивидуальный уровень депрессивности.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ-офи-м «Геномика агрессивного и депрессивного поведения человека» № 17-29-02195.

## ВАРИАНТЫ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ *CYP1B1* И *PITX2* У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ И ПЕРВИЧНОЙ ВРОЖДЕННОЙ ГЛАУКОМОЙ

Еникеева Р.Р.<sup>1</sup>, Лобов С.Л.<sup>1</sup>, Загидуллина А.Ш.<sup>2</sup>, Джемилева Л.У.<sup>1</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, России, 450054, г.Уфа, Проспект Октября, 71

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 450008, г.Уфа, ул. Ленина, 3

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Россия, 450076, г.Уфа, ул. Заки Валиди, 32

[khasanovaram@mail.ru](mailto:khasanovaram@mail.ru)

Глаукома – общий термин, который объединяет большую группу заболеваний органа зрения с различной этиологией, характерно атрофия зрительного нерва при повышении внутриглазного давления и возникновением типичных дефектов поля зрения. Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) является наиболее частой формой глаукомы, в то время как, первичная врожденная глаукома (ПВГ) - наиболее распространенный тип детской глаукомы.

Целью исследования являлось изучение структурных особенностей генов *CYP1B1* и *PITX2* у пациентов с ПОУГ и ПВГ из Республики Башкортостан.

*Материалы и методы.* В качестве исследуемого материала нами были использованы образцы ДНК: 215 пациентов с ПОУГ, предположительно наследственной этиологии, не связанных родством; 14 пациентов с ПВГ и членов из семей (40 образцов), проживающих. Контрольную группу составили образцы ДНК 250 здоровых индивидов. Забор материала проводился с информированного согласия пациентов и членов их семей. Геномная ДНК выделена из периферической венозной крови стандартным методом фенол-хлороформной экстракции. Оценка нуклеотидной последовательности генов *CYP1B1* и *PITX2* проведена методом анализа конформационного полиморфизма одонитевой ДНК с последующим секвенированием.

*Результаты.* В третьем экзоне гена *CYP1B1* у пациентки с ПОУГ русской по этнической принадлежности обнаружена инсерция с.1105\_1106insCCT (P369ins). Диагноз глаукома был также поставлен прабабушке и родной сестре прабабушки с материнской стороны, но они были недоступны на момент исследования, как и отец пробанда. На момент обследования у матери, родной сестры, дочери и сына пробанда клинические признаки глаукомы отсутствовали и с.1105\_1106insCCT не обнаружена.

В 7 экзоне гена *PITX2* выявлен вариант нуклеотидной последовательности с.665T>C (p.Met222Thr) у пациента с ПОУГ. Данный вариант обнаружен впервые, литературные данные отсутствуют. Для оценки патогенетической значимости использовали анализ *in silico* при помощи online ресурсов. Анализ программ PolyPhen, SIFT, mutationtaster, PANTHER показал, что замена с.665T>C (p.Met222Thr) является патогенной.

По данным программного обеспечения ProtScale гидрофобность мутантных белков *CYP1B1* и *PITX2* уменьшается вокруг точек мутаций (с.1104\_1105insCCT; с.665T>C).

Таким образом, идентифицированные варианты с.1104\_1105insCCT и с.665T>C связаны со структурными изменениями белков *CYP1B1*, *PITX2* и, возможно, являются причиной патогенеза глаукомы.

## РОЛЬ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА *RS2234911* ГЕНА, АССОЦИИРОВАННОГО С АКТИВНОСТЬЮ РЕГУЛЯЦИИ ЦИТОСКЕЛЕТА (*ARC*), В ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ВАРИАЦИИ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ТРЕВОЖНОСТИ

Еникеева Р.Ф.<sup>1</sup>, Казанцева А.В.<sup>1</sup>, Давыдова Ю.Д.<sup>1</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, Уфа, пр. Октября, д. 71;

[enikeevarf@gmail.com](mailto:enikeevarf@gmail.com)

Трудности в обучении математике могут быть обусловлены наличием математической тревожности (МТ). МТ характеризует состояние, при котором индивиды испытывают отрицательные эмоции (избегание, тревожность, стресс) и даже болезненные ощущения при необходимости решения задач, требующих использования математических навыков. Согласно литературным данным, повышенная МТ встречается у 4% студентов высшей школы, а около 85% студентов отмечают у себя умеренные ее проявления. В настоящее время проведено множество близнецовых исследований, доказывающих роль наследственности в появлении трудностей в обучении математике, коэффициент наследуемости при этом составил 0,2 – 0,9. В последние годы, белок *ARC* находится под пристальным вниманием исследователей, изучающих процессы обучения и памяти. Активность гена *ARC* в нервных клетках млекопитающих критически важна для запоминания новой информации. Нарушения экспрессии этого гена наблюдаются при ряде неврологических заболеваний, в частности, болезни Альцгеймера, нейродегенеративных заболеваниях и синдроме Ангельмана (наследственного заболевания, при котором типичны задержки психического развития).

В исследовании приняли участие 530 психически здоровых индивидов (русских, татар, башкир, удмуртов) (75% женщин) – студентов ВУЗов г. Уфы (ср.возраст 21,5±3,87 лет), 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.

Результаты оценки распределения частот генотипов полиморфного локуса *rs2234911* гена *ARC* соответствовали распределению Харди-Вайнберга. В результате линейного регрессионного анализа не была выявлена ассоциация полиморфного локуса *rs2234911* гена *ARC* с показателями по шкале математической тревожности ( $P = 0,23$ ). Последующий стратификационный анализ, проведенный среди мужчин, женщин, индивидов татарской, русской, башкирской, удмуртской этнической принадлежности, показал ассоциацию локуса *rs2234911* в гене *ARC* с математической тревожностью у татар ( $PFDR = 0,022$ ;  $r^2 = 0,037$ ). В частности, татары – носители аллеля *rs2234911 T* демонстрировали снижение уровня математической тревожности. Полученные данные указывают на вовлеченность гена *ARC* в различия в уровне МТ.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований 17-16-02009-ОГН.

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РЕГИОНОВ ВЫСОКОЙ ГОМОЗИГОТНОСТИ В ГЕНОМАХ КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ

Колесников Н. А.<sup>1</sup>, Харьков В. Н.<sup>1</sup>, Раджабов О. М.<sup>2</sup>, Степанов В. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>«Научно-исследовательский институт медицинской генетики», федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Российская Федерация, Томск, 634050, ул. Набережная реки Ушайки, д.10

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Институт физики им. Х.И. Амирханова" Дагестанского научного центра РАН, Российская Федерация, г. Махачкала, 367015, ул. М.Ярагского, 94

[nikita.kolesnikov@medgenetics.ru](mailto:nikita.kolesnikov@medgenetics.ru)

Генетико-демографические процессы, климато-географические условия и естественный отбор в популяциях оказывают влияние на структурированность генетического разнообразия в геномах. Они, в частности, приводят к тому, что формируются особенности распределения регионов высокой гомозиготности (РОН - runs of homozygosity) между отдельными людьми и популяциями, что обеспечивает ценный ресурс для изучения эволюционной истории и генетического разнообразия человечества.

Мы использовали данные генотипов по 1677114 аутосомным SNP у 973 человек для поиска регионов высокой гомозиготности. Данные были полученных с помощью биочипов Infinium Multi-Ethnic Global-8 Kit. Коренное население Сибири представляют 489 человек, 165 человек Среднюю Азию, 151 Восточную Европу и 168 Дагестан.

РОН были идентифицированы с помощью программы Runs of Homozygosity, реализованной в PLINK версии 1.9. Для исключения коротких и очень распространенных РОН, которые встречаются у всех людей во всех популяциях, минимальная длина для РОН была установлена равной 300 kb. Всего было найдено 750084 РОН.

В популяциях коренного населения Сибири количество и суммарная длина РОН выше, чем в остальных исследуемых популяциях Средней Азии, Восточной Европы и Дагестана. Количество и общий суммарный размер коротких и средних РОН показывают более высокие значения для исследуемых популяций Сибири, однако, у коренного населения Дагестана, несмотря на меньшее количество коротких и средних РОН, существенный вклад вносят более протяженные регионы высокой гомозиготности, что свидетельствует о сильном инбридинге. Среди коренного населения Сибири максимальные количество и длина РОН наблюдается у чукчей и коряков, минимальным значением, как среди сибирских, так и среди остальных исследуемых популяций, за исключением узбеков, обладают томские татары, что отражает их гетерогенное происхождение.

По всему геному распределение РОН неравномерно, частоты РОН в геноме коррелируют с локальными геномными переменными, такими как скорость рекомбинации, а также с сигналами недавнего положительного отбора.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-29-13045 "Популяционная геномика и транскриптомика человека: поиск сигналов не-нейтральной эволюции".

## ВЛИЯНИЕ ДИСФУНКЦИИ ЛИЗОСОМ НА ПУЛ ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ БОЛЕЗНИ ГОШЕ

Кулабухова Д.Г.<sup>1,2</sup>, Гараева Л.А.<sup>1</sup>, Сенкевич К.А.<sup>1,2</sup>, Нарыжный С.Б.<sup>1,3</sup>, Копылов А.<sup>3</sup>, Зорина Е.<sup>3</sup>, Верлов Н.А.<sup>1</sup>, Варфоломеева Е.Ю.<sup>1</sup>, Волницкий А.В.<sup>1</sup>, Ланда С.Б.<sup>1</sup>, Штам Т.А.<sup>1</sup>, Емельянов А.К.<sup>1,2</sup>, Шварцман А.Л.<sup>1</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФБГУ «Петербургский Институт Ядерной Физики им. Б.П. Константинова Национального Исследовательского Центра «Курчатовский Институт», 188300, Ленинградская область, Гатчина; <sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург; <sup>3</sup>Курчатовский институт, 123182, Москва

[Kulabuhova\\_DG@npri.nrcki.ru](mailto:Kulabuhova_DG@npri.nrcki.ru)

Лизосомные болезни накопления (ЛБН) являются классом наследственных метаболических заболеваний, вызванные мутациями в генах, кодирующих белки лизосом. Наиболее распространенной из ЛБН является болезнь Гоше (БГ), обусловленная мутациями в гене глюкоцереброзидазы (*GBA*). Мутации в гене *GBA* являются наиболее частым генетическим фактором риска развития болезни Паркинсона (БП).

Функциональность лизосом играет важную роль в регуляции секреции экстраклеточных микровезикул (ЭМВ). Однако неизвестно, влияет ли дисфункция лизосом, наблюдаемая при БГ, на концентрацию ЭМВ в плазме крови и их белковый состав.

Методы: ЭМВ были выделены из плазмы периферической крови 8 пациентов с БГ и 8 представителей контрольной группы методом последовательного ультрацентрифугирования. Размеры и концентрация ЭМВ были определены методом анализа траектории наночастиц (NTA) с использованием анализатора NTA NanoSight® LM10 (Malvern Instruments). Распределение ЭМВ по размеру также оценивали с помощью метода динамического светорассеяния (DLS) на лазерном корреляционном спектрометре PLSS (INTOX MED LLC, Россия). Количественный анализ экзосомального поверхностного маркера CD9 проведен с использованием набора Echo-FACS (Lonza, Эстония) методом проточной цитометрии на приборе CytoFlex (Beckman Coulter, США). Белковый профиль экзосом плазмы крови был оценен с помощью масс-спектрометрического анализа на приборе Orbitrap Fusion Lumos MS (Thermo Scientific, США).

Результаты: при оценке концентрации ЭМВ плазмы крови методом NTA не обнаружено различий между пациентами с БГ и контрольной группой. Показано увеличение размера везикул у пациентов с БГ, в сравнении с контролем ( $p = 0,02$ ). При оценке размера ЭМВ методом DLS показано превалирование частиц размером около 100 нм среди пациентов с БГ при сравнении с контролем ( $p = 0,001$ ). Так же показано увеличение количества ЭМВ, экспрессирующих экзосомный поверхностный маркер CD9 у пациентов с БГ, в сравнении с контрольной группой ( $p = 0,03$ ).

Протеомный анализ не выявил в составе экзосом белков, участвующих в патогенезе БП.

Выводы: лизосомная дисфункция у пациентов с БГ приводит к повышению концентрации экзосом плазмы крови.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-015-00262 А и гранта РНФ № 19-15-00315.

## СТЕПЕНЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ИНТРОНА 1 ГЕНА *SNCA* В CD45+ КЛЕТКАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Лавринова А.О.<sup>1</sup>, Мельникова Н.В.<sup>5</sup>, Дмитриев А.А.<sup>5</sup>, Милюхина И.В.<sup>1-3</sup>, Тимофеева А.А.<sup>2</sup> Литусова Е.М.<sup>1</sup>, Гагарина П.А.<sup>1</sup>, Тарасова А.М.<sup>1</sup>, Беркович О.А.<sup>2</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1-3</sup>, Емельянов А.К.<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup> Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Россия, Ленинградская обл., г. Гатчина, мкр. Орлова роща, д. 1; <sup>2</sup> Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8; <sup>3</sup> Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет РАН, Россия, Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 8, корп. 3, литер А; <sup>4</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия, ул. Академика Павлова, д. 12; Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда РАН, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.

[lavrinova.anna@gmail.com](mailto:lavrinova.anna@gmail.com)

Болезнь Паркинсона (БП) является нейродегенеративным заболеванием, ассоциированным с гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга, обусловленной агрегацией в них белка альфа-синуклеина. Было показано, что экспрессия гена альфа-синуклеина (*SNCA*) может регулироваться за счет изменения степени метилирования интрона 1 гена *SNCA*.

Целью исследования являлась оценка степени метилирования интрона 1 гена *SNCA* в CD45+ клетках периферической крови пациентов со sporadic БП и индивидуумов контрольной группы.

В исследование было включено 50 пациентов с БП (средний возраст 61,46±9,04 лет) и 65 лиц контрольной группы (средний возраст 63,4±8,85 лет). CD45+ клетки были выделены из периферической крови в градиенте плотности раствора фикола (Ficoll-Paque PLUS, GE Healthcare, Великобритания) с последующей магнитной сепарацией (ручной сепаратор MACS (Miltenyi Biotec, США), колонки miniMACS типа MS (Miltenyi Biotec, США)). Бисульфитную конвертацию геномной ДНК (500 нг) проводили с помощью набора EZ DNA Methylation-Gold (Zymo Research, США). Бисульфитное секвенирование проводили с использованием набора MiSeq Reagent Nano Kit v2 (500-cycles) (Illumina, США) на приборе MiSeq (Illumina, США).

Не было обнаружено статистически значимых различий при сравнении степени метилирования интрона 1 гена *SNCA* в CD45+ клетках периферической крови пациентов с БП и контроля ( $p=0,217$ ). При сравнении степени метилирования отдельных CpG островков обнаружено повышение степени метилирования 21 и 22 CpG островков интрона 1 гена *SNCA* в CD45+ клетках периферической крови пациентов с БП по сравнению с контролем ( $p=0,045$  и  $p=0,037$ , соответственно).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отсутствии ассоциации БП с изменением степени метилирования интрона 1 гена *SNCA*.

Исследование поддержано грантом РФФИ 16-04-01187.

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПРИ УМСТВЕННОЙ ОТСТАЛОСТИ

Левченко О. А.<sup>1</sup>, Лавров А. В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория мутагенеза ФГБНУ «МГНЦ», 115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1,

<sup>2</sup>Кафедра молекулярной и клеточной генетики, медико-биологический факультет,

РНИМУ им. Н. И. Пирогова.

[olevchenko@med-gen.ru](mailto:olevchenko@med-gen.ru)

Умственная отсталость (УО) является широко распространённой группой заболеваний с частотой от 1% до 3%. Диагностика УО представляет собой актуальную проблему из-за длительности процесса, высокой стоимости и отсутствия точного перечня генов и мутаций в них, приводящих к УО. Рутинные методы диагностики, такие как секвенирование по Сэнгеру, МЛРА, ПДРФ-анализ не эффективны. Технологии массового параллельного секвенирования (МПС) значительно сокращают время диагностического поиска. Наиболее доступными и оптимальными на данный момент являются секвенирование полного или клинического экзона.

В исследование включены 100 пациентов с различными формами УО, соответствующие следующим критериям: клинически исключенная хромосомная патология и синдромы Мартина-Белл и Ретта, отсутствие очаговой неврологической симптоматики, эпилепсии, предшествующей УО, перинатального поражения и внутриутробных инфекций. Из них для 69 выполнено секвенирование полного экзона и для 31 – клинического. Выявлены следующие нозологии: синдромы (Кабуки, Коэн, Коуден, Николаидэса-Барайтсер, Ретта, Смита-Магениса, Хелсмоортел-ван дер Аа, Корнелиа де Лагне подобный, множественных врожденных аномалий и судорог), болезни обмена (МПС ШС тип), ранние эпилептические энцефалопатии (4 и 7 тип), аутосомно-доминантная УО (7, 35, 36, 49 типы, нейродегенеративное расстройство с гиперкинезами или без них, УО с мутацией в гене *GRIAI*), X-сцепленная УО (98 и 102 типов), мезомеллическая дисплазия. Выявлено несколько генов-кандидатов, в которых не описаны мутации, вызывающие УО. В результате обнаружено 10 патогенных вариантов, 5 вероятно патогенных и 43 варианта неизвестного значения (ВНЗ), в 42 случаях варианты не выявлены. После проверки секвенированием по Сэнгеру сегрегации вариантов, 10% ВНЗ переквалифицированы в патогенные, 4,3% в вероятно патогенные, 59,3% в непатогенные и 17,4% остались ВНЗ. Все вероятно патогенные варианты после проверки сегрегации перешли в категорию патогенных. Для 9 пациентов проверить сегрегацию не удалось в связи с отсутствием биоматериала родителей. Таким образом, диагностическая ценность МПС при УО – 23%, при этом 20% для секвенирования полного экзона и 29% – клинического. Вариабельность и неспецифичность клинической картины при УО создает затруднения при установлении первичного диагноза. Некоторые синдромы могут протекать со стертой клинической картиной, не позволяющей распознать диагноз на приеме врача. В подобных случаях ценность экзомного секвенирования значительно возрастает.

## ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ МИКРОРНК, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ ШИЗОФРЕНИЙ

Бутенко Е.В., Мамедов Р.Ф., Шкурат М.А.

*Южный Федеральный Университет, Россия, Ростов-на-Дону, Пр.Стачки 194/1.*

*admiral1877@mail.ru*

Шизофрения является мультифакторным заболеванием (МФЗ) с выраженной генетической компонентой. В последние годы большое внимание уделяется роли регуляторных РНК, в частности, микроРНК в развитии МФЗ. Полиморфизмы генов в микро РНК способны влиять на эффективность их взаимодействия с генами-мишенями, тем самым изменяя их регуляцию. В связи с этим целью представленного исследования являлось провести первый всесторонний систематический обзор ассоциации полиморфизмов генов микроРНК с шизофренией [1].

**Материалы и методы:** был проведен систематический обзор публикаций в соответствии с клиническими рекомендациями PRISMA [1]. Поиск публикаций был осуществлен независимо двумя авторами с использованием электронных баз данных: ScienceDirect, Elibrary, Web of Science, Scopus, PubMed, Google Scholar, КиберЛенинка. Метод формирования информационного массива: просмотр найденных статей по ключевым словам: schizophrenia, mental disorder, miRNA, microRNA, polymorphism, allelic variants, mutation, шизофрения, психическое расстройство, миРНК, микроРНК, полиморфизм, аллельные варианты, мутация. Отбор статей проводили по следующим параметрам: содержание результатов собственных экспериментальных исследований, исследуемый материал - ДНК, исследуемое заболевание - шизофрения, доступен полный текст статьи, изучены полиморфизмы в генах микроРНК. Количество записей, отобранных путем проведения поиска в базах данных составило  $n=2244$ . Количество статей, включенных в исследования, и подходящих по критериям обзора, составило  $n=207$ .

**Результаты:** Всего было проанализировано 72 полиморфизма. В результате поиска были выявлены полиморфизмы в генах микроРНК, ассоциированные с повышенным риском развития шизофрении: miR30-e C/T (rs178077483) OR (95 % CI) = 4.952 (1.887-12.998), miR-137 AA/CA (rs66642155) OR (95 % CI) = 1.608 (0.919- 2.813), miR-198 C/T (rs1700) OR (95 % CI) = 3.52 (1.54–8.08). Ассоциированные с пониженным риском шизофрении: miR-206 C/T (rs17578796) OR (95 % CI) = 0.48 (0.24–0.96), SNP G/T (rs890) OR (95 % CI) = 0.815591 (0.691152-0.962434).

**Благодарности:** Исследование выполнено в рамках базовой части госзадания МОН РФ по теме: "Исследования функциональной роли генетических полиморфизмов и микро РНК в геноме человека и животных", проект № 6.6762.2017 БЧ.

Список использованной литературы:

[1]. <http://www.prisma-statement.org>

## ОЦЕНКА СВЯЗИ ПОЛИМОРФНОГО ВАРИАНТА RS 3025000 ГЕНА *VEGFA* С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА У ЖИТЕЛЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ РОССИИ

Медведева М.В.<sup>1</sup>, Быканова М.А.<sup>1,2</sup>, Клесова Е.Ю.<sup>2</sup>, Азарова Ю.Э.<sup>1,2</sup>, Солодилова М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - ФГБОУ ВО "Курский государственный медицинский университет Минздрава России",

<sup>2</sup> - НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии ФГБОУ ВО КГМУ

Россия, г. Курск, ул. К Маркса, 3.

[Medvedevamariakgvm@yandex.ru](mailto:Medvedevamariakgvm@yandex.ru)

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются одной из ведущих причин заболеваемости и смертности людей по всему миру, при ишемической болезни сердца (ИБС) смертность составляет 90-95%. ИБС является мультифакториальным заболеванием, имеющим выраженную генетическую детерминанту, исследования по поиску генов-кандидатов являются актуальными на сегодняшний момент, и, к настоящему времени, уже изучено более 300 таковых [2]. Одним из патогенетических звеньев развития ИБС являются нарушения ангиогенеза и проницаемости сосудистой стенки, которые регулируются преимущественно генами семейства сосудистых эндотелиальных факторов роста (*VEGFA*), поэтому возможно предположить вклад их полиморфизма в риск возникновения ИБС [1].

Целью настоящего исследования было изучение ассоциации полиморфного варианта rs 3025000 гена *VEGFA* с риском развития ИБС у населения Центральной России.

Объектом исследования была кровь биобанка НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ. Выделение ДНК производилось методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование осуществлялось с применением технологии iPLEX на генетическом анализаторе MassARRAY 4. Все полученные данные оценивались с поправкой на возраст и пол (в общей выборке) в программе SNPStats с использованием значений "p" - уровня значимости и "OR" - отношения шансов.

Был исследован материал 1214 человек, из которых 555 - страдавших ИБС (45,72%), 659 - относительно здоровых (54,28%), из них женщин с ИБС - 260 человек (47%), относительно здоровых - 324 (49%), мужчин с ИБС - 295 человек (53%), относительно здоровых - 335 (51%).

Изучаемая популяция находилась в равновесии Харди-Вайнберга. Частоты минорного аллеля Т в группе больных и контроля были 0,25 и 0,26 соответственно; частоты генотипа С/С в обеих группах были по 0,56 ( $p=0,99$ ,  $OR=1,00$ ,  $CI$  0,80-1,26), С/Т – 0,38 и 0,36 соответственно ( $p=0,38$ ,  $OR=1,11$ ,  $CI$  0,88-1,4), Т/Т – 0,06 и 0,09 соответственно ( $p=0,11$ ,  $OR=0,70$ ,  $CI$  0,45-1,09). Среди женщин статистически значимых ассоциаций также не было установлено ( $P>0,05$ ). Частоты аллеля Т в обеих группах были по 0,26; частоты генотипа С/С в группе больных и контроля были 0,56 и 0,55 соответственно ( $p=0,94$ ,  $OR=0,99$ ,  $CI$  0,71-1,37), С/Т – 0,37 и 0,38 соответственно ( $p=0,92$ ,  $OR=0,98$ ,  $CI$  0,70-1,38), Т/Т – по 0,07 ( $p=0,47$ ,  $OR=0,26$ ,  $CI$  0,68-2,32). Для мужской части популяции частоты аллеля Т в группе больных и контроля были 0,25 и 0,27 соответственно; частоты генотипа С/С в обеих группах были по 0,56 ( $p=0,93$ ,  $OR=1,01$ ,  $CI$  0,74-1,89), С/Т – 0,39 и 0,34 соответственно ( $p=0,18$ ,  $OR=1,25$ ,  $CI$  0,90-1,73), Т/Т – 0,05 и 0,1 соответственно ( $p=0,03$ ,  $OR=0,51$ ,  $CI$  0,27-0,94).

Таким образом, у мужчин в популяции региона Центральной России наблюдалась статистически значимая ассоциация ( $P<0,05$ ) мутантного генотипа Т/Т rs 3025000 с повышенным риском развития ИБС.

Литература.

1. Гавриленко Т.И., Рыжкова Н.А., Пархоменко А.Н. Сосудистый эндотелиальный фактор роста в клинике внутренних заболеваний и его патогенетическое значение // Украинский кардиологический журнал. 2011. Т. 4. С. 87-95.

2. Go A., Mozaffarian D., Roger V. et al. Heart disease and stroke statistics-2014 update: A report from the American Heart Association // Circulation. – 2014. –Vol. 129, №3. – P. e28–e292.

**Благодарности:** данная работа была выполнена на базе НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России с использованием материала биобанка крови лаборатории, а также при поддержке руководства и сотрудников.

## ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ С УСПЕШНОСТЬЮ ВОСХОЖДЕНИЯ НА ВЫСОТЫ БОЛЕЕ 7000 МЕТРОВ

Меркурьева В.А.<sup>1,2</sup>, Глотов О.С.<sup>1,2,3</sup>, Федяков М.А.<sup>1</sup>, Золотарева А.Д.<sup>2</sup>, Асеев М.В.<sup>1,3</sup>,  
И.В. Полякова<sup>1,2</sup>, М.М. Данилова<sup>3</sup>, Е.С. Вашукова<sup>3</sup>, С.А. Семилеткин<sup>2</sup>, А.С. Глотов<sup>1,2,3</sup>,  
С.Ш. Намозова<sup>2</sup>, Д.А. Алавердян<sup>1</sup>, С.П. Уразов<sup>1</sup>, А.М. Сарана<sup>1,2</sup>, Щербак С.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>СПб ГБУЗ «Городская больница № 40», ул.Борисова, д.9, г.Сестрорецк, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>СПбГУ, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>ФГБНУ "НИИ АГиР им. Отта", Менделеевская линия, д.3, Санкт-Петербург, Россия  
[olglotov@mail.ru](mailto:olglotov@mail.ru)

С каждым годом растёт интерес к совершению горвосхождений, в особенности на высотах более 7000 и даже 8000 метров. К сожалению, далеко не каждое восхождение заканчивается успехом или завершением программы без нанесения вреда здоровью, напротив, участились случаи развития острой горной болезни с тяжелыми последствиями для организма.

Известно, что у каждого организма существует свой предел реакции на воздействие гипоксии, который во многом обусловлен сбалансированностью биохимических процессов, протекающих в организме человека, и нормой реакции, связанной с наследственностью.

Целью данной работы было изучение механизмов адаптации к восхождению на высоты более 7000 метров на молекулярном уровне. Произведено исследование полиморфизма следующих генов: ACE (rs1799752), ACTN3 (rs1815739), AMPD1 (rs17602729), PPARA (rs4253778), PPARC (rs2016520), PPARG (rs1801282), UCP2 (rs660339), UCP3 (rs1800849), PPARGC1A (rs8192678), SR (rs6311), DRD-2A (rs1800497) с целью выявления ассоциации с большей устойчивостью к гипоксии альпинистов-профессионалов и обычных горвосходителей. В исследовании приняло участие 235 человек, более 25% из которых составили гиды-высотники и члены высотной сборной команды России по альпинизму, а остальные - рядовые альпинисты, в том числе и имеющие свой личный вертикальный предел и проблемы с адаптацией к условиям высокогорья. Группа сравнения – популяционный контроль 427 человек.

Выявлено, что частота генотипа T/T по гену AMPD1 выше среди профессиональных альпинистов-высотников по сравнению с контролем и альпинистами-любителями, включая тех, кто совершал подъемы на высоты более 7000 метров. Показано увеличение частоты генотипа Pro/Pro по гену PPARG среди альпинистов всех уровней в сравнении с контролем, и увеличение частоты аллели C по гену PPARC среди альпинистов-любителей, которым удалось подняться выше 7000 метров по сравнению с группой альпинистов, которые не поднимались выше 6999 метров. Установлено, что частота аллели Val по гену UCP2 ниже среди всех альпинистов, кому удалось подняться выше 7000 метров в сравнении с контролем.

Интересно отметить, что варианты в гене AMPD1, ассоциированные со снижением физической работоспособности, чаще встречаются среди профессиональных альпинистов-высотников, что, вероятно, связано с тем, что на высоте могут быть задействованы другие механизмы повышения работоспособности и энергетического обеспечения мышц. В связи с этим, полученные факты требуют расширенного исследования с секвенированием полного экзона.

## БРАЧНАЯ СТРУКТУРА, РЕПРОДУКТИВНЫЕ ПАРАМЕТРЫ И МУТАЦИИ ГЕНА *GJB2* (Сх26) У ГЛУХИХ ЛЮДЕЙ В ЯКУТИИ

Романов Г.П.<sup>1,2</sup>, Барашков Н.А.<sup>1,2</sup>, Терютин Ф.М.<sup>1,2</sup>, Лашин С.А.<sup>3,4</sup>, Соловьев А.В.<sup>1,2</sup>,  
Пшеничкова В.Г.<sup>1,2</sup>, Бондарь А.А.<sup>5</sup>, Морозов И.В.<sup>4,5</sup>, Сазонов Н.Н.<sup>1</sup>, Томский М.И.<sup>2</sup>,  
Джемилева Л.У.<sup>6</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>6,7</sup>, Посух О.Л.<sup>3,4</sup>, Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Северо-восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Россия, Якутск, ул. Кулаковского, 46; <sup>2</sup>Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Россия, Якутск, Сергеляхское шоссе, 4; <sup>3</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-т ак. Лаврентьева, 10; <sup>4</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1. <sup>5</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-т ак. Лаврентьева, 8; <sup>6</sup>Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Россия, Уфа, пр-т Октября, 71; <sup>7</sup>Башкирский государственный университет, Россия, Уфа, ул. Заки Валиди, 32

[gpromanov@gmail.com](mailto:gpromanov@gmail.com)

Аутосомно-рецессивная глухота 1А типа (АРГ 1А), вызванная мутациями в гене *GJB2* (Сх26), является основной причиной несиндромальной потери слуха во многих популяциях мира. Ранее было показано, что на её широкую распространенность могла повлиять длительная традиция заключения ассортативных браков между глухими людьми (АБ), в сочетании с ростом их социальной адаптации и генетической приспособленности (genetic fitness), после широкого внедрения жестового языка. В настоящей работе впервые представлены данные о брачной структуре и параметрах репродукции глухих людей, проживающих в Якутии, в сопоставлении с данными о вкладе мутаций гена *GJB2* в этиологию нарушений слуха. Мы показали, что, несмотря на некоторое снижение среднего числа детей у глухих индивидуумов по сравнению с их слышащими сибсами ( $1.76 \pm 0.10$  и  $2.24 \pm 0.09$ , соответственно,  $p=0.0018$ ), их относительная плодовитость (relative fertility) является достаточно высокой (0.78). Доля АБ между глухими людьми в Якутии составила 77.1% от всех браков с участием глухих (81 из 105 браков). Кроме того, у 42.2% (43 из 102) обследованных глухих были обнаружены биаллельные рецессивные мутации в гене *GJB2*, что подтвердило у них диагноз АРГ 1А типа. При сопоставлении *GJB2*-генотипов брачных партнеров была выявлена доля «истинно» некомплементарных АБ (24%), в которых потеря слуха у обоих супругов была обусловлена мутациями гена *GJB2*, и в которых могут родиться только глухие дети. Таким образом, совокупность полученных данных: относительно высокая генетическая приспособленность (выраженная в плодовитости) глухих людей в Якутии в сочетании с высокой распространенностью их ассортативных браков и значительной частотой АРГ 1А типа свидетельствует о вероятном ослаблении давления отбора против такого признака как «глухота» и возможном росте частоты *GJB2*-мутантных аллелей в последующих поколениях.

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке госзадания Минобрнауки РФ №6.1766.2017/ПЧ, проекта СВФУ им. М.К. Аммосова, а также при финансовой поддержке грантов РФФИ (17-29-06-016\_офи\_м, 18-015-00212\_А, 18-013-00738\_А, 18-54-16004\_НЦНИЛ\_а, 18-05-600035\_Арктика) и программы биоресурсных коллекций ФАНО России УНУ «Геном Якутии» ЯНЦ КМП (БРК: 0556-2017-0003).

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МОНОГЕННЫХ ФОРМ УРОЛИТИАЗА

Светличная Д.В.<sup>1</sup>, Тадевосян Э. Г., Филиппова Т. В.<sup>1</sup>, Хафизов К.Ф.<sup>3</sup>, Сперанская А. С.<sup>3</sup>, Асанов А.Ю., Литвинова М. М.<sup>1,2,3</sup>.

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО Первый МГМУ им И.М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский Университет), Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр. 2; <sup>2</sup> ГБУЗ Московский Клинический Научный Центр имени А.С. Логинова ДЗМ, Россия, г. Москва, шоссе Энтузиастов, 86; <sup>3</sup> ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3а.

[div.swet@gmail.com](mailto:div.swet@gmail.com)

Уролитиаз является одним из наиболее распространенных хронических заболеваний мочевыделительной системы. Мочекаменная болезнь имеет высокую распространенность, а частота встречаемости увеличивается с возрастом. У больных, страдающих МКБ, часто происходит рецидив заболевания. В течение 5-10 лет рецидив наблюдается у 50% больных и в течение 20 лет - у 75%. Заболеваемость среди мужчин и женщин практически одинакова. Среди взрослого населения наиболее распространена мультифакториальная форма МКБ, в то время как моногенные формы преобладают в детском и подростковом возрасте. В базе данных OMIM описано около 80 моногенных форм МКБ. Одним из главных факторов риска развития МКБ является гиперкальциурия. Нарушение кальциевого обмена описано у 40-50% больных с МКБ, в связи с чем особый интерес представляют генетические причины, лежащие в основе данного нарушения. Ранняя молекулярно-генетическая диагностика моногенных форм МКБ имеет важное значение для прогнозирования течения заболевания и выбора тактики лечения.

По данным существующей зарубежной и российской литературы, посвященных исследованию МКБ и различных международных баз данных (OMIM, ORFANET, PUBMED), были отобраны гены, мутации в которых приводят к развитию заболевания. К основным моногенным формам МКБ с нарушением кальциевого обмена можно отнести: болезнь Дента (*OCRL*, *CLCN5*), почечный канальцевый ацидоз (*SLC4A1*, *ATP6V0A4*, *ATP6B1*), синдром Бартера (*SLC12A1*, *KCNJ1*, *MAGED2*, *CASR*), семейная гипомagneмия с гиперкальциурией и нефрокальцинозом (*CLDN16*, *CLDN19*), инфантильная гиперкальциемия (*CYP24A1*) и др.

Перечисленные гены преимущественно регулируют метаболизм кальция в организме, продукты генов участвуют в обмене некоторых витаминов и гормонов (витамин Д, паратгормон и др.). Некоторые из них участвуют в поддержании водно-солевого баланса. Функция других генов заключается в расщеплении матричных белков в составе камней.

Гены, ответственные за моногенные формы уролитиаза целесообразно исследовать с помощью секвенирования всей кодирующей последовательности, а также с помощью метода NGS. Современные молекулярно-генетические методы диагностики позволяют выявлять не только описанные ранее патогенные варианты, но также новые патогенные или вероятно-патогенные варианты, играющие важную роль в развитии моногенных форм мочекаменной болезни.

На основе проведенного анализа мировой литературы сформирована генетическая диагностическая панель с применением метода массового параллельного секвенирования. Своевременное выявление точной генетической причины заболевания позволяет индивидуально подойти к лечению данного заболевания у пациента.

## СЕЛЕКТИВНОЕ ПРЕИМУЩЕСТВО ГЕТЕРОЗИГОТНЫХ НОСИТЕЛЕЙ МУТАЦИИ с.-23+1G>А ГЕНА *GJB2* У КОРЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Соловьев А.В.<sup>1,2</sup>, Барашков Н.А.<sup>1,2</sup>, Терютин Ф.М.<sup>1,2</sup>, Саввинова К.Е.<sup>1</sup>, Пшенникова В.Г.<sup>1,2</sup>, Готовцев Н.Н.<sup>1,2</sup>, Романов Г.П.<sup>1,2</sup>, Рафаилов А.М.<sup>1</sup>, Томский М.И.<sup>2</sup>, Сазонов Н.Н.<sup>1</sup>, Джемилева Л.У.<sup>3,4</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>4,5</sup>, Посух О.Л.<sup>6,7</sup>, Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Россия, г. Якутск, ул. Кулаковского, д. 46; <sup>2</sup>Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Россия, г. Якутск, Сергеляхское шоссе, д.4; <sup>3</sup>Башкирский государственный медицинский университет, Россия, г. Уфа, ул. Ленина, д.3; <sup>4</sup>Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Россия, г. Уфа, пр-т Октября, д.71; <sup>5</sup>Башкирский государственный университет, Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, д.32; <sup>6</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, г. Новосибирск, пр-т ак. Лаврентьева, д.10; <sup>7</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, г. Новосибирск, ул. Пирогова, д.1.

[nelloann@mail.ru](mailto:nelloann@mail.ru)

Ранее мы показали, что регион Восточной Сибири можно рассматривать как «эндемичный очаг» распространения рецессивной мутации с.-23+1G>А гена *GJB2*, которая в гомозиготном состоянии является основной причиной аутосомно-рецессивной глухоты 1А типа в Якутии. Кроме того, в популяции якутов была выявлена экстремально высокая (11.7%) частота гетерозиготного носительства мутации с.-23+1G>А, что может свидетельствовать о возможном, пока еще неизвестном, механизме селективного преимущества носителей с.-23+1G>А в условиях субарктического климата. Ген *GJB2* кодирует трансмембранный белок коннексин 26, экспрессия которого происходит в тканях внутреннего уха и в других органах и тканях, в частности в эпидермисе кожи. Существует гипотеза, что носительство мутаций гена *GJB2* может оказывать протективный эффект при ранениях кожи и ограничивать клеточную инвазию некоторых бактериальных инфекций.

Для изучения возможного селективного преимущества гетерозиготных носителей с.-23+1G>А гена *GJB2* были сформированы выборки индивидуумов с различными *GJB2*-генотипами. У 152 индивидуумов было проведено ультразвуковое исследование толщины эпидермиса. У 272 индивидов было проведено анкетирование согласно Бристольской шкале с информацией о количестве случаев диареи за последний год. Сравнительный анализ толщины эпидермиса показал, что индивидуумы с мутацией с.-23+1G>А как в гомо- так и в гетерозиготном состоянии имели более толстый слой эпидермиса по сравнению с индивидами без этой мутации. Кроме того, у индивидов с мутацией с.-23+1G>А в гетерозиготном состоянии достоверно реже ( $p < 0,05$ ) регистрировались случаи диареи за последний год, нежели чем у индивидов без мутации.

Таким образом, полученные в настоящем исследовании данные об утолщенном эпидермисе кожи и повышенной устойчивости к желудочно-кишечным инфекциям индивидуумов с мутацией с.-23+1G>А могут свидетельствовать в пользу гипотезы гетерозиготного преимущества носителей мутантных аллелей гена *GJB2* и служить одним из объяснений экстремально высокой частоты гетерозиготного носительства этой мутации среди коренных жителей Восточной Сибири.

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства образования и науки РФ №6.1766.2017 ПЧ, НИР ЯНЦ КМП «Изучение генетической структуры и груза наследственной патологии популяций Республики Саха (Якутия)» и грантов РФФИ №17-29-06016-офи-м, №18-54-16004\_НЦНИЛ\_а, №18-015-00212\_А, №18-013-00738\_А, №18-05-60035\_Арктика.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ АНЕВРИЗМ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Султанова Р.И.,<sup>1</sup> Хусаинова Р.И.<sup>1,2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ РМГЦ Республиканский медико-генетический центр, РФ, г.Уфа, ул. Гафури 74

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, РФ, г. Уфа, пр. Октября, 71

R-ka\_@mail.ru

**Интракраниальная аневризма (ИА)** – это патологическое местное расширение просвета артерии головного мозга, приводящее, вследствие разрыва к субарахноидальным кровоизлияниям. Частота заболевания в общей популяции составляет 3,2% [1]. Патогенез ИА – сложный процесс, имеющий генетическую основу, в который вовлечено множество различных факторов. Идентификация генов вовлеченных в развитие аневризм может способствовать пониманию механизма образования и разрыва ИА, а также развитию потенциально эффективной фармакологической терапии в будущем.

Проведен анализ 19 ДНК локусов у 311 пациентов с ИА и 284 практически здоровых индивидов в качестве группы контроля, русской этнической принадлежности. Исследуемые выборки включают сведения о возрасте, количестве аневризм, локализации, наследственного статуса и наличии сопутствующих заболеваний, как артериальная гипертензия (АГ) и недифференцированная дисплазия соединительной ткани (нДСТ).

Обнаружена ассоциация генотипа *2G 2G rs1799750* гена *MMPI1*, с риском развития ИА, как в общей выборке ( $p=0,00002$ ;  $\chi^2=17,63$ ; OR=2,11 95% ДИ 1,48-2,99), так и при разделении выборки по гендерным различиям: у мужчин ( $p=0,0004$ ;  $\chi^2=12,42$ ; OR=2,54, 95% ДИ 1,51-4,30) и женщин ( $p=0,01$ ;  $\chi^2=5,75$ ; OR=1,78, 95% ДИ 1,11-2,86). Генотип *T T* полиморфного варианта *rs243865* гена *MMP2* ( $p=0,05$ ;  $\chi^2=3,68$ ; OR=1,38 95% ДИ 0,99-1,92), оказался маркером повышенного риска развития ИА.

Выявлено, что генотип *C C* локусов *rs594942* и *rs11603042* гена *VEGFB* ассоциирован с риском развития ИА в целом ( $p=0,017$ ;  $\chi^2=5,702$ ; OR=1,49, 95% ДИ 1,07-2,07), а также у женщин с ИА ( $p=0,0005$ ;  $\chi^2=12,078$ ; OR=2,25, 95% ДИ 1,42-3,57) и с симптомокомплексом нДСТ ( $p=0,007$ ;  $\chi^2=7,173$ ; OR=2,67, 95% ДИ 1,29-5,53) и АГ ( $p=0,010$ ;  $\chi^2=6,471$ ; OR=2,51, 95% ДИ 1,23-5,12). Генотип *C G* *rs308395* гена *FGF2* ассоциирован с повышенным риском развития ИА у мужчин ( $p=0,02$ ;  $\chi^2=4,75$ ; OR=1,92, 95% ДИ 1,06-3,46). Генотип *T T* *rs2000708* гена *SMAD2* – маркер повышенного риска в общей выборке ( $p=0,04$ ;  $\chi^2=3,96$ ; OR=1,51, 95% ДИ 1,00-2,26) и группе женщин с ИА ( $p=0,04$ ;  $\chi^2=3,96$ ; OR=1,51, 95% ДИ 1,00-2,26). Генотип *C C* локуса *rs6494629* гена *SMAD3* является маркером повышенного риска ИА у женщин в сочетании с нДСТ ( $p=0,03$ ;  $\chi^2=4,3$ ; OR=2,38, 95% ДИ 1,03-5,48), генотип *C C* *rs2289263* гена *SMAD3* ассоциирован с ИА у мужчин с АГ ( $p=0,03$ ;  $\chi^2=4,4$ ; OR=2,19, 95% ДИ 1,04-4,59).

Таким образом, показана значимость изученных локусов в развитии ИА, а также наличие общих звеньев в патогенезе артериальной гипертензии и нДСТ.

### Список литературы

1. Vlak MH, Algra A, Brandenburg R, Rinkel GJ. Prevalence of unruptured intracranial aneurysms, with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: a systematic review and metaanalysis. *Lancet Neurol*. 2011. V.10. P.626–636.
2. Dority JS, Oldham JS. Subarachnoid Hemorrhage: An Update. *Anesthesiol Clin*. 2016 Sep;34(3):577-600. doi: 10.1016/j.anclin.2016.04.009.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №

## ХАРАКТЕРИСТИКА ТИПОВ СЕГРЕГАЦИЙ ХРОМОСОМ В МЕЙОТИЧЕСКОМ ДЕЛЕНИИ У НОСИТЕЛЕЙ РЕЦИПРОКНЫХ ТРАНСЛОКАЦИЙ

Тонян З.Н.<sup>1</sup>, Трофимова И.Л.<sup>1,2,3</sup>, Сайфитдинова А.Ф.<sup>2,4,5</sup>, Логинова Ю.А.<sup>2</sup>, Чиряева О.Г.<sup>6</sup>, Кинунен А.А.<sup>2,7</sup>, Пастухова Ю.Р.<sup>2</sup>, Леонтьева О.А.<sup>2</sup>, Бичева Н.К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Россия, г. Санкт-Петербург; <sup>2</sup> Международный центр репродуктивной медицины, Россия, г. Санкт-Петербург; <sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, Россия, г. Санкт-Петербург; <sup>4</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург; <sup>5</sup> ФГБОУ ВО РГПУ им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург; <sup>6</sup> ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», Россия, г. Санкт-Петербург; <sup>7</sup> СПб ГКУЗ Диагностический центр (медико-генетический), Россия, г. Санкт-Петербург

[il\\_trofimova@list.ru](mailto:il_trofimova@list.ru), [ziravard@yandex.ru](mailto:ziravard@yandex.ru)

Аутосомные реципрокные транслокации (АРТ) являются одной из самых распространенных структурных перестроек и встречаются в среднем с частотой 1:500 [1]. Носители АРТ, несмотря на нормальный фенотип, имеют повышенный риск образования генетически несбалансированных гамет вследствие нарушенного расхождения хромосом в первом мейотическом делении. Целью работы стал анализ мейотической сегрегации хромосом в метафазе мейоза-I у носителей АРТ. Для характеристики типа АРТ проводилось кариотипирование на лимфоцитах периферической крови с помощью Q- или G-бэндинга. Анализ типов сегрегаций хромосом проводился на интерфазных ядрах бластомеров третьего дня развития, полученных в результате биопсии в 35 циклах вспомогательных репродуктивных технологий у 27 пар, методом FISH с использованием зондов к вовлеченным в перестройку хромосомам. Был проанализирован 271 бластомер. Тип сегрегации вовлеченных в транслокацию хромосом определялся по количеству FISH сигналов для транслоцируемых и центрических сегментов при различных типах расхождения хромосом в мейозе [2]. В 28 % бластомеров выявлен сбалансированный кариотип, свидетельствующий об альтернативном типе сегрегации хромосом в мейозе-I. В 62 % бластомеров наблюдался несбалансированный кариотип, обусловленный в 26,6 % случаев сегрегацией 3:1; в 20,7 % - смежным-1 типом расхождения; в 12,2 % - смежным-2 типом расхождения; в 1,5 % - сегрегацией 4:0. У 11 % бластомеров тип сегрегации не определен вследствие мозаичного кариотипа либо нарушения ploidy. Потенциальная жизнеспособность генетически несбалансированных эмбрионов оценивалась путем построения треугольника жизнеспособности [3]. Среди 56 потенциально жизнеспособных эмбрионов в 50 % случаев наблюдался тип расхождения 3:1; в 46% - смежный- 1; в 4 % - смежный-2. Усредненный риск рождения ребенка с хромосомной патологией для всех носителей АРТ оценивался путем сегрегационного анализа и составил 20,66 % (высокий риск). Поскольку практически каждая АРТ в кариотипе человека уникальна по хромосомам, вовлеченным в ее образование, и точкам разрыва на коротком или длинном плечах этих хромосом, изучение типов сегрегации хромосом при каждом носительстве, шансов наступления беременности или вероятности остановки развития плода, рождения ребенка с ВПР может использоваться в медико-генетическом консультировании.

[1]. Gardner R. J. M., Amor D. J., Chromosome abnormalities and genetic counseling. //2018, P.135.

[2]. Scrinen P.N., Ogilvie C.M. Fluorescence in situ hybridization on single cells. Sex determination and chromosome rearrangements. // 2007, Single cell diagnostics. Methods and protocols, P.25.

[3]. Daniel A., Structural differences in reciprocal translocations. //1979, Human genetics, V. 51, P.171-182.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№18-34-00279).

## ГЕНОФОНД МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК И Y-ХРОМОСОМЫ НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОЙ СИБИРИ ГУННО-САРМАТСКОГО ВРЕМЕНИ (КОНЕЦ I ТЫС. ДО Н.Э. – ПЕРВАЯ ПОЛОВИНА I ТЫС. Н.Э.)

Черданцев С.В.<sup>1</sup>, Трапезов Р.О.<sup>1</sup>, Полосьмак Н.В.<sup>2</sup>, Молодин В.И.<sup>2</sup>, Пилипенко А.С.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Российская Федерация, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева 10, 630090;

<sup>2</sup>Институт Археологии и этнографии СО РАН, Российская Федерация, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева 17

<sup>3</sup>Новосибирский государственный университет, Российская Федерация, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

[stephancherd@gmail.com](mailto:stephancherd@gmail.com)

Согласно археологическим и историческим данным, кочевые племена конца I тыс. до н.э. — начала I тыс. н.э. играли ключевую роль в культурных и этнических процессах в Центральной Азии и прилегающих районах. Процессы, протекавшие в этот период, определили структуру генофонда многих групп коренного населения Евразии, включая современные монголоязычные и тюркоязычные народы. Исследуемые нами группы населения Южной Сибири железного века (хунну и синхронные им группы населения регионов Тувы и Саяно-Алтайской горной страны) участвовали в масштабных миграционных событиях, охвативших весь евразийский степной пояс и прилегающие к нему регионы. Нами был исследован генофонд мтДНК (в сумме 116 образцов) и Y-хромосомы четырёх групп населения гунно-сарматского времени: хунну с территории Забайкалья, население гунно-сарматского времени Тувы, носителей таштыкской культуры Минусинской котловины и булан-кобинской культуры Горного Алтая. По структуре генофонда мтДНК хунну Забайкалья обнаружили высокое сходство с современными монголоязычными популяциями восточных районов Центральной Азии. Основным механизмом формирования структуры генофонда мтДНК всех рассмотренных в данном исследовании популяций Южной Сибири гунно-сарматского времени является их генетическая преемственность с предшествовавшим населением скифского времени. Наряду с этим, в генофонде мтДНК исследованных групп населения Южной Сибири присутствуют минорные компоненты, которые указывают на потенциальное генетическое влияние хунну и/или родственных им групп кочевников Центральной Азии. Это влияние, по-видимому, играло роль второстепенного фактора при формировании генофонда мтДНК населения Алтае-Саянской горной системы и прилегающих регионов. Получены данные о вариабельности линий Y-хромосомы в генофонде хунну Забайкалья, населения гунно-сарматского времени Тувы, носителей булан-кобинской культуры Горного Алтая и таштыкской культуры Минусинской котловины.

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-78-20193.

## ПОИСК АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНА КОЛЛАГЕНА I ТИПА С РАЗВИТИЕМ ОСТЕОАРТРОЗА У ЖЕНЩИН

Шаповалова Д.А.<sup>1</sup>, Тюрин А.В.<sup>2</sup>, Хусаинова Р.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра РАН, г. Уфа;

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ РФ г. Уфа;  
[daria-ufa92@mail.ru](mailto:daria-ufa92@mail.ru)

Остеоартроз (ОА) – многофакторное заболевание, в основе которого лежит поражение всех компонентов сустава. При этом частота заболеваемости выше среди женщин и достигает 6,53% по сравнению с 3,42% у мужчин. Вклад генетического компонента в развитие ОА оценивается от 40% до 65%. Коллаген I типа – важный компонент костного матрикса и соединительной ткани. Мутации в генах коллагена I-го типа приводят к возникновению дефектов кости и родственных ей тканей. Проведено исследование двух полиморфных вариантов *rs1800012* (c.104-441G>T) и *rs1107946* (c.-2116T>G) гена *COL1A1* кодирующего α-цепь коллагена I типа [1].

**Цель исследования.** Поиск ассоциаций полиморфных вариантов *rs1800012* и *rs1107946* гена коллагена I типа (*COL1A1*) с формированием предрасположенности к ОА у женщин из Республики Башкортостан с учетом локализации патологического процесса.

**Материалы и методы.** Выборка состояла из 432 женщин, среди которых 146 женщин с остеопорозом. Генотипирование локусов проведено с использованием технологии KASP®.

**Результаты и обсуждение.** Получена ассоциация аллеля \*T локуса *rs1800012* с ОА тазобедренного сустава, частота которого в данной группе составила 0,197 в сравнении с 0,103 в контроле ( $\chi^2=5,202$ ,  $p=0,022$ , OR=2,13; 95% ДИ 1,1-4,14). Ранее исследовалась роль данного локуса в развитии остеопороза (ОП) и согласно многим данным аллель \*T ассоциирован с низким уровнем минеральной плотности костной ткани (МПКТ) и более высоким риском развития переломов [2], данная ассоциация с ОП была подтверждена у женщин из Волго-Уральского региона России [1]. При исследовании другого полиморфного локуса *rs1107946* (c.-2116T>G) аллель \*C показал ассоциацию с ОА в целом ( $\chi^2=5,884$ ,  $p=0,015$ , OR=1,84; 95% ДИ 1,12-3), коксартрозом ( $\chi^2=4,267$ ,  $p=0,038$ , OR=2,56; 95% ДИ 1,02-6,42) и полиартрозом ( $\chi^2=7,478$ ,  $p=0,006$ , OR=5,25; 95% ДИ 1,56-17,74), по сравнению с контролем. Гомозиготный генотип \*C\*C данного локуса также показал ассоциацию с ОА в целом ( $\chi^2=4,475$ ,  $p=0,034$ , OR=1,87; 95% ДИ 1,04-3,41). Данный полиморфный локус *rs1107946* впервые был исследован у пациентов с остеопорозом и по результатам мета-анализа генотип \*C\*C показал ассоциацию с высоким уровнем МПКТ, в сравнении с \*T\*T генотипом у индивидов европейского происхождения [2]. Ассоциация генотипа \*C\*C данного локуса с высоким уровнем МПКТ и ОА у женщин подтверждает эпидемиологические данные о том, что высокий уровень плотности является одним из факторов риска ОА [3].

Таким образом, нами выявлена значимость полиморфных вариантов *rs1107946* и *rs1800012* гена *COL1A1* в формировании предрасположенности к ОА у женщин из Республики Башкортостан с учетом локализации патологического процесса.

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки РФ (№АААА-А16-116020350032-1). Образцы ДНК для исследования взяты из ЦКП "Коллекция биологических материалов человека" ИБГ УФИЦ РАН, поддержанного Программой биоресурсных коллекций ФАНО России (соглашением № 007-030164/2).

**Литература** [1] Селезнева Л.И., Хусаинова Р.И., Нурлыгаянов Р.З. Анализ ассоциаций полиморфизмов и гаплотипов 5-региона гена *COL1A1* с риском развития остеопоретических переломов у женщин Волго-Уральского региона России. Т. 44 № 2. 2008. С.: 219-225. [2] Xie P., Liu B., Zhang L, et al. Association of *COL1A1* polymorphisms with osteoporosis: a meta-analysis of clinical studies. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015; 8(9): 14764–14781. [3] Hardcastle S. A, Dieppe P., Gregson C.L., et al. Osteoarthritis and bone mineral density: are strong bones bad for joints? *Bone key Rep.* 2015; 4: 624.

## ОНКОГЕННАЯ РОЛЬ СОЧЕТАНИЙ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ *TP53*, *IL-1*, *LEP* И *CDK4* И ИХ РЕЦЕПТОРОВ

Горбунова В.Ю.<sup>1</sup>, Воробьева Е.В.<sup>1</sup>, Мухиярова И.И.<sup>1</sup>, Бакиев Р.Р.<sup>1</sup>, Николаев И.В.<sup>1</sup>,  
Попова А.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «БГПУ им. М.Акмиллы», Россия, г.Уфа, ул. Октябрьской революции, 3а;  
[obg\\_bspu@mail.ru](mailto:obg_bspu@mail.ru)

Персонализированная онкология предполагает наличие системы генетического тестирования и скрининга для проведения предиктивных и профилактических мероприятий как по отношению к личности, так и консультирования семьи. Имеется множество подходов к определению предрасположенности к развитию онкологии.

Наши исследования отличаются тем, что:

- в контрольную группу включаются особи, у которых в четвертом экзоне гена *TP53* нет замены гуанина на цитозин (*rs1042522*), при которой аминокислота Arg замещается на Pro в 72 кодоне аминокислотной последовательности (p.Arg72Pro), поскольку транскрипционный фактор p53 гарантирует генетическую однородность клеток и предотвращает их пролиферацию;

- в исследовании изучаются сочетания аллелей генов и их рецепторов, характеризующие, прежде всего, гены клеточного цикла (*TP53*, *CDK4*), интерлейкинового и липидного каскадов.

Накопление в генотипе индивида мутаций генов *IL-1*-рецепторного комплекса, приводящих к нарушению нормального соотношения *IL-1B* и *IL-1RA* в сыворотке крови, может являться причиной развития онкопатологии.

В научной литературе имеются публикации [1], [2], в которых сообщается о роли аллелей генов *IL-1* и *LEP* как критических сочетаний для индукции пролиферации клеток при РМЖ.

В наших исследованиях достоверно показано, что утрата функции гена *TP53* как транскрипционного фактора для генов клеточного цикла усугубляется взаимодействием непротективных аллелей генов цитокинового и липидного каскадов, что наблюдается практически в каждом случае. Так, в группе исследованных индивидов выявлена модель межгенного взаимодействия, характеризующаяся следующим сочетанием непротективных аллелей генов: *TP53 Pro/ Pro // IL1B E2/ E2 // LEP A/ A // CDK4 C/ C // RB T/ T* способствовавшая развитию онкологических заболеваний.

Таким образом, сочетание непротективных аллелей вышеназванных генов можно использовать при генетической экспертизе популяции для выявления предрасположенности к онкозаболеваниям, что позволит проводить превентивные мероприятия.

[1] Shanchun Guo, Ruben R. Gonzalez-Perez., Notch, IL-1 and Leptin Crosstalk Outcome (NILCO) Is Critical for Leptin-Induced Proliferation, Migration and VEGF/VEGFR-2 Expression in Breast Cancer. // 2011, PLoS ONE., V.6(6), doi:10.1371/journal.pone.0021467

[2] Crystal C Lipsey, Adriana Harbuzariu, Danielle Daley-Brown, and Ruben R Gonzalez-Perez., Oncogenic role of leptin and Notch interleukin-1 leptin crosstalk outcome in cancer. // 2016, World J Methodol.; V.6(1), P. 43–55.

## ГЕНЫ – ПОВЕДЕНИЕ – ЯДЕРНЫЕ АНОМАЛИИ

Калаев В.Н.<sup>1</sup>, Нечаева М.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО ВГУ, кафедра генетики, цитологии и биоинженерии, Россия, Воронеж, Университетская пл., 1; <sup>2</sup> ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко, кафедра нормальной физиологии, Россия, Воронеж, ул. Чайковского, д. 3а  
[dr\\_huixs@mail.ru](mailto:dr_huixs@mail.ru)

Известно, что некоторые психологические характеристики человека генетически детерминированы. Установлена роль генов транспортера серотонина (ТС), моноаминоксидазы А (МАО А) и андрогенового рецептора (АР) в формировании агрессивного поведения. Однако слабо изучено влияние психоэмоционального статуса человека на его генетический аппарат.

Цель исследования – выявить влияние генетически детерминированного психоэмоционального состояния человека на стабильность ядерного аппарата.

Впервые для популяции жителей г. Воронежа установлены частоты встречаемости длинных (р) и коротких (q) аллелей генов МАО А ( $p=0,643$ ;  $q=0,357$ ), СТ ( $p=0,577$ ,  $q=0,423$ ), АР ( $p=0,682$ ,  $q=0,318$ ). По сравнению с расчетными значениями снижены частоты встречаемости гетерозигот по аллелям генов МАО А и СТ, что предположительно обусловлено брачной ассортативностью. Носители коротких аллелей СТ, МАО А и АР обладали более выраженной агрессивностью, фрустрацией, ригидностью, тревожностью. Проявление влияния генотипа на психологические показатели по аллелям изученных генов зависит от пола.

Показано, что агрессивность и связанные с ней психологические характеристики изменяют встречаемость клеток буккального эпителия с аномалиями ядра (микроядрами, ядерными протрузиями, перинуклеарными вакуолями, насечками, кариолизисом, кариорексисом, кариопикнозом).

Исследования во время соревновательного периода группы спортсменов позволили установить, что на 3 день после соревнований лица с высокими показателями агрессивности имели больше клеток с микроядрами и перинуклеарными вакуолями и меньше – с насечками и протрузиями (что указывает на снижение пролиферативной активности), чем низкоагрессивные индивидуумы. Проигравшие спортсмены имели больше ядерных аберраций, чем спортсмены, одержавшие победу.

Лица, обладающие высокоактивными вариантами генов СТ 5-HTTL и МАО А имели более низкие уровни долей клеток с аберрациями ядра в буккальном эпителии.

Таким образом, психоэмоциональное состояние, кариологический статус и полиморфизм генов серотонергической системы непосредственно связаны между собой посредством серотонергической системы организма, оказывающей влияние как на психоэмоциональное состояние человека, так и на число генетически аберрантных клеток в организме. Психоэмоциональный статус человека, обусловленный генетически детерминированными психологическими характеристиками, оказывает влияние на стабильность его генетического аппарата.

## КЛЕТКИ СЕРТОЛИ. ОТВЕТ НА АРЕСТ МЕЙОЗА I

Коломиец О.Л., Новокрещенова А.Н., Лелекова М.А., Спангенберг В.Е.

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, 119991, Москва, ул. Губкина д.3  
olkolomiets@mail.ru*

Основной причиной мужского секреторного бесплодия является нарушение сперматогенеза. Выявление причин нарушения сперматогенеза является основой понимания этиологии мужского бесплодия, определения целесообразности и рисков использования тестикулярных сперматозоидов в программах ЭКО/ИКСИ. Помимо структурных нарушений хромосом, к аресту мейоза могут приводить мутации генов структурных белков синаптонемного комплекса (СК), нарушение архитектоники ядер, формирования полового тельца, репарации DSBs ДНК, синапсиса хромосом и их сегрегации на стадии диплотены. Ошибки мейоза могут приводить к анеуплоидии гамет и потомства, гибели плода. Вместе с тем накапливаются данные о том, что нарушение фертильности м.б. связано с мутациями генов, специфически экспрессирующихся в клетках Сертоли (кС) - единственных соматических тестикулярных клетках, которые непосредственно взаимодействуют с формирующимися половыми клетками, контролируют их пролиферацию и дифференцировку. Поэтому изучение взаимодействий кС со сперматогенными клетками актуально для понимания механизмов формирования мужского бесплодия. Особый интерес для понимания роли кС в регуляции мейоза имеют результаты исследования животных с нокаутом генов, экспрессирующихся в кС, в частности, данные о роли андрогенового рецептора в регуляции синапсиса и репарации DSBs в мейозе.

Целью настоящей работы было исследование судьбы сперматоцитов, подверженных аресту на стадии пахитены, и роли кС в их утилизации у пациентов с мейотическим бесплодием и у самцов мыши после введения им циклофосфамида в дозе 100 мг/кг. Проведено иммуноцитохимическое исследование давленных препаратов тестикулярных канальцев с параллельным исследованием тотальных препаратов распластанных СК. Использованы антитела к белкам СК - SCP3 и SCP1; белку репарации DSBs - RAD51; белку мисматч репарации - MLH1; маркерам кС - WT1 и виментину, а также к активированной каспазе 3. В цитоплазме кС инфертильных пациентов с помощью антител к SCP3 фрагменты СК были выявлены в 10-20% кС, тогда, как через 24 ч после введения мышам ЦФ, фрагменты СК выявляются в 98% кС. По-видимому, при раннем блоке мейоза у человека большинство сперматоцитов просто удаляются с поверхности кС. Это подтверждает наличие большого количества живых сперматоцитов в эякулятах пациентов с блоком мейоза на стадии пахитены. Кроме того, у некоторых пациентов наблюдалось слущивание сперматоцитов с нормальной морфологией, что позволяет предположить нарушение адгезии между кС и сперматоцитами. **Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-01447.**

## АНАЛИЗ ВОВЛЕЧЕННОСТИ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ КЛЮЧЕВЫЕ МОЛЕКУЛЫ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА В РАЗВИТИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Корытина Г.Ф.<sup>1</sup>, Ахмадишина Л.З.<sup>1</sup>, Азнабаева Ю.Г.<sup>2</sup>, Загидуллин Ш.З.<sup>2</sup>, Викторова Т.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (ИБГ УФИЦ РАН), Российская Федерация, Уфа, 450054, Пр. Октября, 71.

<sup>2</sup>Башкирский государственный медицинский университет, Российская Федерация, Уфа, 450000, ул. Ленина, 3,

[guly\\_kory@mail.ru](mailto:guly_kory@mail.ru)

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) - многофакторное хроническое воспалительное заболевание респираторной системы с преимущественным поражением дистальных отделов дыхательных путей и легочной паренхимы; остается множество вопросов, затрагивающих механизмы фенотипической гетерогенности ХОБЛ. Цель настоящего исследования заключалась в выявлении ассоциации полиморфных локусов функционально взаимосвязанных генов, кодирующих ключевые молекулы воспалительного ответа с развитием ХОБЛ и формирования фенотипа ХОБЛ с частыми обострениями. Использовали образцы ДНК неродственных индивидов, татар по этнической принадлежности, из Республики Башкортостан: больные ХОБЛ (N=511, из них 262 больных ХОБЛ с частыми обострениями и 249 больных со стабильным течением ХОБЛ) и контроль (N=508). Для анализа сформирована панель из 47 полиморфных локусов генов, отобранных по результатам анализа профиля экспрессии, и уже известных генах, связанных с системным воспалением (*SAA1*, *CRP*, *PECAM1*, *ICAM1*, *TNF*, *LTA*, *TNFRS1B*, *TNFRS1A*, *CD14*, *IL1B*, *ILRN*, *IL6*, *IL10*, *IL17A*, *IL12*, *IL13*, *IL20*, *CCL2*, *CCR2*, *CCL5*, *CCR5*, *CCR6*, *CCL23*, *CCL8*, *CCL11*, *CCL20*, *CCL17*, *CXCL8*, *CXCL12*, *CX3CL1*, *CX3CR1*, *ADIPOQ*, *ADIPOR1*, *NFKB1*, *JAK1*, *JAK3*, *STAT1*, *STAT3*), которые анализировали методами TaqMan и KASP™ (LGC Genomics) на приборе BioRad CFX96™. Статистическую обработку данных проводили, используя пакеты прикладных программ Statistica v. 6.0, PLINK v. 1.07. **Результаты.** Ассоциация с развитием ХОБЛ была установлена с локусами генов *SAA1* (*rs1136743*), *JAK1* (*rs310216*), *JAK3* (*rs3212780*), *NFKB1* (*rs28362491*), *IL17A* (*rs1974226*), *PECAM1* (*rs281865545*), *ICAM1* (*rs5498*), *IL6* (*rs1800795*), *CXCL8* (*rs4073*) *TNF* (*rs1800629*), *IL1B* (*rs16944*), *CCL20* (*rs6749704*). Фенотип ХОБЛ с частыми обострениями ассоциирован с локусами: *ICAM1* (*rs5498*), *JAK1* (*rs310216*), *IL17A* (*rs1974226*, *rs1974998*), *SAA1* (*rs1136743*), *CCL5* (*rs2107538*), *CCR5* (32-bp), *CCL20* (*rs6749704*), *CCL2* (*rs1024611*), *STAT3* (*rs2293152*) *TNF* (*rs1800629*), *IL1B* (*rs16944*) *CCL20* (*rs6749704*), *IL6* (*rs1800795*) и *CXCL8* (*rs4073*). Вариабельность количественных показателей функции внешнего дыхания, связанных с прогрессированием ХОБЛ связана с локусами *CD14* (*rs2569190*), *NFKB1* (*rs28362491*), *PECAM1* (*rs281865545*), *CCR5* (32-bp), *CX3CR1* (*rs3732378*), *CXCL12* (*rs1801157*), *STAT1* (*rs12693591*) *LTA* (*rs909253*), *TNF* (*rs1800629*), *JAK1* (*rs31021*), *ADIPOR1* (*rs12733285*) и *CCL20* (*rs6749704*). **Благодарности:** Исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (№18-015-00050).

## НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЧЕЛОВЕКА

Моссе И.Б.<sup>1</sup>, Бакунович К.В.<sup>1</sup>, Кухтинская Л.В.<sup>1</sup>, Чарыкова И.А.<sup>2</sup>, Докукина Т.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Беларусь, г. Минск, ул. Академическая 27;

<sup>2</sup>Республиканский научно-практический центр спорта», Беларусь, г. Минск, ул. Воронянского, 50/1;

<sup>3</sup>Республиканский научно-практический центр психического здоровья», Беларусь, г. Минск, ул. Долгиновский тракт, 152

[i.mosse@igc.by](mailto:i.mosse@igc.by)

Для определения наиболее информативных генетических маркеров, ассоциированных с психоэмоциональной деятельностью человека, проведено сравнение генотипов 856 человек, представляющих различные слои населения Беларуси: лица экстремальных профессий (сотрудники спецподразделений Министерства внутренних дел РБ, прошедшие психологический отбор на стрессоустойчивость), индивиды с личностными расстройствами и девиантным поведением, и группа популяционного контроля. Для генетического тестирования были отобраны 35 полиморфных вариантов генов нейромедиаторных систем мозга. Исследование проводили с помощью трёх подходов:

- сравнение частот встречаемости аллелей тестируемых генов в разных группах испытуемых;
- сравнение генотипов групп, отнесённых с помощью метода квартилей к стрессоустойчивым или эмоционально неустойчивым по результатам психологического тестирования;
- определение психологических характеристик людей с разными генотипами.

Психологическое и психофизиологическое тестирование проводили с использованием русскоязычной версии опросника «The Perceived Stress Scale-10» («Шкала воспринимаемого стресса»), а также HADS-теста (тревога и депрессия), опросников Маслач и Бойко, и аппаратно-программного комплекса «Психотест».

Генотипирование проводили методами Real time ПЦР с использованием зондов TaqMan и методом ПЦР-ПДРФ анализа. Выявлены полиморфные варианты генов (STin2 5-HTTVNTR гена SLC6A3, 5-HTTLPR гена SLC6A4, 939C/T гена DRD2, -521C/T гена DRD4, 833C/T гена HTR2A, T-182C гена NET и A/G гена OXTR), которые являются достаточно информативными для определения психоэмоциональных особенностей человека. В частности, установлено, что носители аллеля T полиморфизма 939C/T гена DRD2 в комбинации с аллелем C полиморфизма -521C/T гена DRD4 отличаются высоким риском развития синдромов «эмоционального выгорания» и «неудовлетворенности собой», а обладатели генотипа S/S полиморфизма 5-HTTLPR гена SLC6A4 предрасположены к депрессии и более высокому уровню субъективно-личностного восприятия стресса.

Анализ генетической компоненты психоэмоционального статуса личности позволяет оценивать перспективность кандидата для экстремальных видов деятельности (сотрудники спецподразделений, пилоты, авиадиспетчеры и др.), разрабатывать индивидуальные программы психологической и фармакологической коррекции и реабилитации человека, своевременно выявлять и корректировать психологические проблемы.

## КОМПАУНД-ГЕТЕРОЗИГОТА Leu33Pro/Leu40Arg GPIIIa В РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Сироткина О.В.<sup>1,2,3</sup>, Масленников А.Б.<sup>4</sup>, Цикаленко Е.А.<sup>4</sup>, Вавилова Т.В.<sup>1</sup>, Пчелина С.Н.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д.2; <sup>2</sup>ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Россия, Гатчина, Ленинградская обл., микрорайон Орлова Роцца; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, д. 6/8; <sup>4</sup>ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница №1», Россия, Новосибирск, ул. Залесского, д.6, корп.7

[olga\\_sirotkina@mail.ru](mailto:olga_sirotkina@mail.ru)

По данным ВОЗ в структуре смертности населения ведущее место занимает смертность от сердечно-сосудистых и тромбоэмболических заболеваний, в основе патогенеза которых лежит, в том числе, агрегация тромбоцитов на месте повреждения эндотелия сосудов. Центральная роль в осуществлении реакций активации и агрегации тромбоцитов принадлежит гликопротеину IIb/IIIa, который является рецептором фибриногена на поверхности тромбоцитов.

Цель исследования: анализ распределения в различных выборках Российской Федерации генетических вариантов субъединицы GPIIIa рецептора фибриногена, которые ассоциированы с высокой функциональной активностью тромбоцитов.

Материалы и методы: всего было проанализировано 359 и 1287 жителей обоего пола Санкт-Петербурга (СПб) и Новосибирска, соответственно, не связанных узлами родства. Генетические варианты Leu33Pro и Leu40Arg GPIIIa определяли методом ПЦР с последующим ПДРФ анализом с рестриктазой MspI.

Результаты: частота генотипа Leu33Leu33 составила 74 и 68%, Leu33Pro – 23 и 29%, в СПб и Новосибирске, соответственно, частота генотипа Pro33Pro33 - 3% в обеих выборках. Частота аллели Pro33 была достоверно выше в выборке Новосибирска (p=0,03). Среди носителей аллели Pro33 нами были выявлены лица с генетическим вариантом Leu40Arg, который находится в сцеплении с Leu33Pro: 2% лиц в СПб (7 человек) и Новосибирске (24 человека) являлись носителями гаплотипа Leu33Pro33/Leu40Arg40 или Pro33Pro33/Leu40Arg40 гена GPIIIa. Для проверки гипотезы о расположении Leu33Pro и Leu40Arg на одной аллели был проведен семейный анализ данных генетических вариантов, который показал наличие сцепления. Функциональные тесты активации тромбоцитов показали высокую степень АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у носителей компаунд-гетерозиготы Leu33Pro33/Leu40Arg40 и Pro33Pro33/Leu40Arg40 гена GPIIIa. В зарубежной литературе нами было найдено сообщение о гетерозиготном носительстве Leu40Arg GPIIIa, частота которого среди 9242 обследованных раковых пациентов регистра города Копенгагена (Дания) составила 0.62% [1].

Заключение: Leu40Arg, сцепленный с Leu33Pro GPIIIa, часто встречается в различных популяциях Российской Федерации, что необходимо учитывать при диагностическом генотипировании GPIIIa. Arg40 GPIIIa, усиливает действие Pro33 GPIIIa на агрегационные свойства тромбоцитов, и требует внимания при интерпретации результатов генетического исследования.

1. Wojesen S.E. et al. Integrin  $\beta 3$  Leu33Pro homozygosity and risk of cancer//J Natl Cancer Inst, 2003, V.95, P.1150-1157

## ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ И МЕХАНИЗМОВ, СВЯЗАННЫХ С РАЗВИТИЕМ ДЕПРЕССИИ

Сломинский П.А.<sup>1</sup>, Шадрина М.И.<sup>1</sup>, Филатова Е.В.<sup>1</sup>, Долотов О.В.<sup>1</sup>, Гуляева Н.В.<sup>2</sup>, Гехт А.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Россия, г. Москва, пл. Ак. Курчатова, д.2;

<sup>2</sup>Научно-практический психоневрологический центр им. З.П. Соловьева, Москва, Россия, ул. Донская, д. 43

[slomin@img.ras.ru](mailto:slomin@img.ras.ru)

Клиническая депрессия является одним из наиболее тяжелых типов аффективных расстройств. Актуальность проблемы депрессии определяется, прежде всего, ее нарастающей распространенностью - по оценке ВОЗ от этого заболевания в мире страдает около 350 миллионов человек. Депрессия существенно снижает качество жизни, а в тяжелой форме или в сочетании с хроническим соматическим или неврологическим заболеванием депрессия может привести к суицидальному состоянию. Семейные и близнецовые исследования указывают на важную роль генетических факторов в патогенезе заболевания и выявлен ряд ассоциаций между полиморфными вариантами различных генов и риском развития и/или субфенотипами депрессии. Нами был проведен анализ ряда ДНК маркеров, ассоциация с которыми депрессии считается доказанной, у пациентов с развитием большого депрессивного расстройства, в нескольких выборках пациентов из г. Москвы с различными клиническими вариантами депрессии. Для большинства проанализированных маркеров в изученных нами выборках не было выявлено ассоциации с развитием заболевания. Наиболее интересна ассоциация с маркером rs6264 гена нейротрофического фактора мозга BDNF - частота редкого аллеля нарастает в выборках пациентов с более тяжелыми клиническими вариантами депрессии и особенно сильно - в группе пациентов с суицидальными попытками в анамнезе.

Однако в целом полученные результаты генетического анализа говорят о том, что простой анализ полиморфных ДНК маркеров не позволит решить проблему роли генетических факторов в патогенезе депрессии. Необходимо дополнить проводимые ассоциативные исследования анализом динамических изменений, происходящих в организме в процессе развития депрессивных расстройств. Однако возможности таких исследований на человеке ограничены самой природой таких заболеваний и необходимо широкое использование различных моделей депрессии на животных. Нами в настоящее время получены три модели стресса/депрессии у крыс линии Sprague-Dawley и проведен полнотранскриптомный анализ с использованием технологии высокопроизводительного секвенирования РНК тканей гиппокампа и префронтальной коры. При этом были выявлены как общие, так и специфические метаболические, пути для трех моделей, которые могут быть связаны с патогенезом депрессии. Одним из наиболее интересных для последующего изучения является ген *Dusp1*, который кодирует фосфатазу с двойной специфичностью и может регулировать большое число клеточных процессов через систему митоген активируемых протеин киназ.

## SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN *HERC2* (RS12913832) AND *OCA2* (RS1800407) GENES IN RELATION TO IRIS COLOR VARIATION OF BELARUSIAN POPULATION

Shapturenko M.N.<sup>1</sup>, Vakula S.I.<sup>1</sup>, Kandratsiuk A.V.<sup>1</sup>, Gudievskaya I.G.<sup>2</sup>, Shinkevich M.V.<sup>2</sup>, Marchenko L.N.<sup>2</sup>, Luhauniou A.U.<sup>3</sup>, Borovko S.R.<sup>3</sup>, Kilchevsky A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, 220072, 27 Acadimic st.; <sup>2</sup>Belarusian State Medical University, Minsk 220116, 83 Dzerzhinski ave.; <sup>3</sup> State Forensic Examination Committee of the Republic of Belarus, Minsk 220073, 2a Volodarskogo St., [m.shapturenko@igc.by](mailto:m.shapturenko@igc.by)

Over the last ten years, the genetics of eye color have been extensively studied for the Forensic DNA Phenotyping (FDP) purposes. The polymorphisms in *HERC2/OCA2* genes had been identified as having a specially strong effect on human eye color. There is significant evidence from functional studies that the position rs12913832 located in intron 86 of *HERC2* contains a highly conserved regulatory element, which plays a crucial role in blue eye color determination. This SNP acts as enhancer of the transcription of *OCA2* gene, involved in the regulation of melanin synthesis. It was shown that *OCA2* expression was reduced in lightly pigmented melanocytes with the derived allele rs12913832:G compared to darkly pigmented melanocytes with the ancestral allele rs12913832:A. Besides, the nonsynonymous mutation rs1800407:A in *OCA2* decreased the pigmentation level of the iris when found in cis phase with rs12913832:A. Additional genes suggested to have a minor effect upon iris pigmentation include *SLC45A2*, *TYR*, *TYRP1*, *SLC24A4*, *IRF4*.

To develop an FDP-specific predictive model for Belarusian population, we set up the investigation of association between SNP-candidates and quantitatively measured eye color. A total 627 individuals were recruited and their iris pigmentation phenotypes were photo-documented by high-resolution shots Canon 750d. The image pixel information was transformed to Hue-Saturation-Value triplet and used for evaluation of pheomelanin, eumelanin and non-pigmented ratio with developed color reference in Matlab (R2018a).

To date, two major variants rs12913832 and rs1800407 of 209 individuals were genotyped through TaqMan. The SNP allele distribution in the target regions of individuals under research was shifted to the G-alleles for both spots: 79% - rs12913832:G, 74% - rs1800407:G. In accordance to the dominant model, brown eye color is the outcome in individuals with allele rs12913832:A. However, in our research some of the genotypes rs12913832:GA demonstrated intermediate eye color. Further, we have gaged the effect of the *HERC2-OCA2* variation on the light/dark iris color grade. High values OR (>30) for rs12913832 confirmed it strong relationship with iris color. The impact of rs1800407 (<5.2) was significantly weaker. The logistic regression revealed a low percentage (3.9%) of incorrect predictions: 97.3% of light-eyed individuals and 92.9% of dark-eyed individuals were correctly classified through *HERC2*(rs12913832)/*OCA2*(rs1800407) model.

## ВЛИЯНИЕ ДОФАМИНА *IN VITRO* НА ЭПИГЕНЕТИЧЕСКУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ГЕНА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА.

Емельянов А. К.<sup>1,2,3</sup>, Лавринова А. О.<sup>1</sup>, Мельникова Н. В.<sup>5</sup>, Дмитриев А. А.<sup>5</sup>, Литусова Е. М.<sup>1</sup>, Гагарина П. А.<sup>1</sup>, Миллюхина И. В.<sup>2,4</sup>, Беркович О. А.<sup>2</sup>, Пчелина С. Н.<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Россия, Ленинградская обл., г. Гатчина

<sup>2</sup> Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Россия, Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет РАН, Россия, Санкт-Петербург

<sup>4</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

<sup>5</sup> Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда РАН, Россия, г. Москва  
[e\\_anton\\_gen@mail.ru](mailto:e_anton_gen@mail.ru)

Показано, что нарушение метаболизма белка альфа-синуклеина и его агрегация ассоциированы с патогенезом болезни Паркинсона (БП). Предполагается, что гибель дофаминергических нейронов при БП может быть опосредована влиянием дофамина на процесс олигомеризации альфа-синуклеина через эпигенетические пути регуляции экспрессии гена альфа-синуклеина (*SNCA*). Целью исследования явилась оценка *in vitro* влияния дофамина на степень метилирования интрона 1 гена *SNCA*, уровень мРНК *SNCA*, а также уровень альфа-синуклеина и ДНК-метилтрансферазы 1 (*DNMT1*) в лимфоцитах периферической крови (ЛПК) пациентов с БП и индивидуумов контрольной группы.

В исследование было включено 20 пациентов (средний возраст 63,65±7,41 лет) с БП, не принимающих Л-ДОФА-содержащие препараты и 16 индивидуумов (средний возраст 62,5±8,05 лет) контрольной группы. Проведено культивирование ЛПК в течение трех суток (5% CO<sub>2</sub>, 37°C) в присутствии 100 мкМ дофамина (Sigma-Aldrich, США). С использованием ПЦР в режиме реального времени и красителя SYBR Green 1 (Bio-Rad, США) был оценен уровень мРНК *SNCA*. Измерение уровня *DNMT1* проводилось методом ИФА (*DNMT1 Assay Kit* (Epigentek, США)) в цитозольной и ядерной фракциях ЛПК, выделенных с применением набора *EpiQuik nuclear extraction kit* (Epigentek, США).

Бисульфитное секвенирование проводилось с использованием набора *MiSeq Reagent Nano Kit v2* (Illumina, США) на приборе *MiSeq* (Illumina, США).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы *SPSS 21.0*.

Обнаружено снижение уровня мРНК гена *SNCA* в ЛПК, культивированных в присутствии дофамина, как в случае группы пациентов с БП ( $p=0,02$ ), так и в контроле ( $p=0,003$ ).

Выявлено снижение уровня белка *DNMT1* в группе пациентов с БП по сравнению с контролем как в цитозольной, так и в ядерной белковых фракциях ЛПК, вне зависимости от присутствия в питательной среде дофамина ( $p<0,02$ ). Не выявлено изменения степени метилирования интрона 1 гена *SNCA* в ЛПК пациентов с БП и контроля вне зависимости от обработки клеток дофамином. Выявлена прямая корреляция степени метилирования интрона 1 гена *SNCA* и концентрации *DNMT1* как в ядерной ( $r=0,673$ ,  $p=0,033$ ), так и в цитозольной фракциях ( $r=0,663$ ,  $p=0,037$ ) ЛПК индивидуумов контрольной группы при добавлении к клеткам дофамина.

Проведенное исследование впервые показывает влияние дофамина на уровень экспрессии гена *SNCA* в лимфоцитах периферической крови пациентов с БП и контроля, а также позволяет предположить участие *DNMT1* в патогенезе БП.

Исследование поддержано грантом РФФИ 16-04-01187.

## ИЗУЧЕНИЕ ВКЛАДА АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В РАЗВИТИЕ ОТВЕТНОЙ РЕАКЦИИ КЛЕТОК НА ВНЕШНЕЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ

Коваленко К.А., Машкина Е.В., Букреева А.В., Волосовцова Г.И.

Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, Россия, Ростов-на-Дону

[konst\\_ak@mail.ru](mailto:konst_ak@mail.ru)

**Введение.** Механизмом, через который реализуется воздействие многих факторов окружающей среды на организм, является окислительный стресс. Окислительный стресс - это результат нарушения баланса между продукцией оксидантов и эффективностью работы антиоксидантной системы. Основными составляющими окислительного стресса являются активные формы кислорода (АФК). Повышение концентрации АФК активирует перекисное окисление липидов и белков, активные интермедиаты которого способны реагировать с ДНК, вызывая мутации и апоптоз. С другой стороны, концентрация АФК может определять уровень транскрипции целого ряда генов, формирующих ответную реакцию клеток на внешнее воздействие. Тип реакции клеток зависит от интенсивности внешнего фактора и/или аллельных вариантов генов.

**Целью** настоящего исследования явилось изучение уровня свободно-радикальных процессов в культуре лимфоцитов периферической крови человека при индуцированном окислительном стрессе в зависимости от аллельных вариантов генов цитокинов.

**Материал и методы.** Материалом для работы послужила цельная венозная кровь 13 добровольцев. В исследование были вовлечены только доноры мужского пола для исключения влияния гормонального фона женщин, опосредованного менструальным циклом. Возраст испытуемых составил от 19 до 33 лет. На начальном этапе производили взятие венозной крови у испытуемых в вакуумные пробирки с гепарином (для последующего культивирования клеток крови) и с ЭДТА (для молекулярно-генетического исследования). Цельную кровь культивировали 3, 24 и 27 часов в условиях воздействия стрессорного фактора - пероксида водорода в концентрациях 22,5 мкМ и 4,5 мкМ. Далее анализировали люминол-зависимую хемилюминесценцию, позволяющую оценить уровень свободно-радикальных процессов в полученных культурах клеток в ответ на действие стрессорного фактора. Аллельные варианты *-31C-T* гена *IL-1 $\beta$*  (rs1143627), *-174G-C* гена *IL-6* (rs1800795), *-592C-A* гена *IL-10* (rs1800872), *-308G-A* гена *TNF $\alpha$*  (rs1800629) исследовали с использованием наборов реагентов SNP-экспресс (Литех, Россия).

**Основные результаты.** При культивировании лейкоцитов периферической крови в течение 27 часов в контрольных условиях наблюдается сохранение динамического равновесия в системе прооксиданты – антиоксиданты. Показатели хемилюминесценции, отражающие уровень образующихся свободных радикалов (быстрая вспышка хемилюминесценции) и активность антиоксидантной системы (светосумма хемилюминесценции за 10 с измерения) в культивируемых клетках коррелируют между собой ( $r = 0,928$ ,  $p < 0,05$ ) и остаются стабильным на протяжении всего периода деления клеток.

Для оценки вклада отдельных факторов в формирование ответной реакции клеток на внешнее воздействие был проведен корреляционный анализ интенсивности показателей хемилюминесценции с особенностями генотипа клеток по полиморфным вариантам генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. С использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена выявлена прямая сильная зависимость между уровнем быстрой вспышки хемилюминесценции и наличием полиморфного варианта гена провоспалительного цитокина *IL-1 $\beta$* . Гомозиготность по полиморфному варианту *-31T* гена *IL-1 $\beta$*  коррелирует с более высоким уровнем свободных радикалов в клетках, что зафиксировано по высоте быстрой вспышки хемилюминесценции как в контрольных

условиях культивирования, так и после воздействия пероксида водорода. Данный полиморфный вариант повышает уровень транскрипции гена интерлейкина 1, что способствует развитию индуцируемых свободно-радикальных реакций. В культуре клеток, не имеющих данного полиморфного варианта гена интерлейкина 1, интенсивность быстрой вспышки хемилюминесценции снижена.

Одновременно, особенности генотипа клеток по полиморфизму *-31C-T* гена *IL-1β* коррелируют с емкостью антиоксидантной системы клеток в течение первых суток культивирования. При наличии полиморфного варианта данного гена более высокий базовый уровень свободно-радикальных продуктов в клетке коррелирует с большей емкостью антиоксидантной системы, что позволяет сохранять динамическое равновесие в системе прооксиданты – антиоксиданты без развития окислительного стресса.

В вариантах опыта при воздействии пероксида водорода в концентрации 22,5 мкМ выявлена подобная зависимость светосуммы хемилюминесценции от генотипа клеток по полиморфизму *-308G-A* гена *TNFα*. Исследуемый полиморфный вариант гена провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли также характеризуется более высоким уровнем транскрипции.

Не выявлено зависимости показателей хемилюминесценции от особенностей генотипа клеток по полиморфным вариантам индуцибельного цитокина интерлейкин 6, а также противовоспалительного цитокина интерлейкин 10 как в контрольных условиях, так и при воздействии пероксида водорода.

**Заключение.** Таким образом, выявлена зависимость интенсивности свободно-радикальных реакций в клетках от генотипа по полиморфным вариантам генов провоспалительных цитокинов интерлейкина 1β и фактора некроза опухоли.

## ГЕНЫ НЕЙРОТРАНСМИТТЕРНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ СД2.

Кочетова О.В.,<sup>1</sup> Корытина Г.Ф.,<sup>1</sup> Авзалетдинова Д. Ш.,<sup>2</sup> Мустафина О. Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия, Проспект Октября, 71

<sup>2</sup>Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия  
[Olga\\_mk78@mai.ru](mailto:Olga_mk78@mai.ru)

Сахарный диабет 2 типа (СД2) – масштабная медико-биологическая и социальная проблема современного мира. Показано, что полиморфные варианты генов нейротрансмиттерной системы участвуют в формировании ожирения и СД2.

Целью исследования явился анализ полиморфных вариантов генов нейротрансмиттерной системы *GRIN2B* (rs7301328, rs1805476), *GRIK3* rs534131, *GRIA1* rs2195450, *HTR2A* rs6313, *ANKK1* rs1800497, *5-HTTLPR* rs25531, *TPH2* rs4570625, *TMEM18* rs2860323, rs6548238, *NEGR* rs2815752, *BDNF* rs925946 у пациентов с СД2 и в контроле.

Всего было обследовано 637 человек. Из них 310 пациентов с СД2 и 327 лиц без клинических и лабораторных признаков диабета. Выборки пациентов и контроля были сопоставимы по полу, возрасту и относились к татарам. ДНК выделяли из венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование шести полиморфных локусов генов *GRIN2B* rs7301328, rs1805476, *GRIK3* rs534131, *GRIA1* rs2195450, *HTR2A* rs6313, *ANKK1* rs1800497, *5-HTTLPR* rs25531, *TPH2* rs4570625, *TMEM18* rs2860323, rs6548238, *NEGR* rs2815752, *BDNF* rs925946 анализировали методом ПЦР с последующим расщеплением рестриктазами. Статистическую обработку данных проводили, используя программы Statistica v. 6.0 и PLINK v. 1.07. Сравнение групп по количественным показателям проведен с помощью непараметрического U-теста Манна-Уитни. При сравнении частот качественных признаков использован критерий  $\chi^2$  Пирсона. Частоты гаплотипов и величина  $D'$ , а также различия в частотах гаплотипов между группами рассчитывали в программе Haploview 4.2.

Анализ полиморфных вариантов исследованных генов показал, что пациенты с СД2 и контрольная группа статистически значимо отличались по распределению генотипов и аллелей следующих маркеров *GRIK3* rs534131 ( $p=0.003$ , OR=1.57), *HTR2A* rs6313 ( $p=0.0001$ , OR=1.24), *TMEM18* rs2860323 ( $p=0.008$ , OR=1.92) и *NEGR* rs2815752 ( $p=0.017$ , OR=0.55). Анализ гаплотипов гена *TMEM18* выявил сцепление  $D'=0.573$ ,  $r^2=0.47$ . Установлено, что гаплотип Т-Т ассоциирован с устойчивостью к развитию СД2 ( $p=0.01$ , OR=0.43).

Ассоциация полиморфного маркера rs2195450 гена *GRIA1* показана с индексом массы тела ( $p=0.013$ ) и уровнем триглицеридов ( $p=0.02$ ). Установлено, что полиморфный маркер *GRIN2B* rs2241423 ассоциирован с уровнем холестерина ( $p=0.015$ ). Выявлены новые молекулярные маркеры СД2, что может способствовать разработки диагностических критериев, проведения профилактического лечения и разработки принципиально новых лекарственных препаратов. Работа получила частичную финансовую поддержку РФФИ 18-015-00050.

## TWIN METHOD IN (EPI)GENOMICS, OMICS AND BIOMARKER RESEARCH

Odintsova V.V.<sup>1,2</sup>, Van Dongen J.<sup>1</sup>, Boomsma D<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Vrije Universiteit, the Netherlands, Van der Boechorststraat 7-9, 1081 BT Amsterdam*

<sup>2</sup>*Kulakov National Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of Ministry of Health of Russian Federation*

<sup>3</sup>*Federal Research Institute for Health Organization and Informatics of Ministry of Health of Russian Federation*

*veronika.od@gmail.com*

The classical twin design includes mono- and dizygotic (MZ and DZ) twin pairs reared together, the resemblance for one or more human traits is compared between MZ and DZ twins to obtain estimates of heritability [1]. A larger resemblance in MZ twins is consistent with genetic influences on the trait under study. For heritable traits, the comparison of discordant MZ twins represents a powerful improvement over the traditional case-control study to search for disease-associated biological marks, disease-causing mutations and for studying various other newly emerging phenotypes (the epigenome, transcriptome, metabolome, proteome, and microbiome) [2]. Classical twin methods in combination with molecular genetic methods permit to identify genes, copy number variants, biomarkers and metabolites that are associated with disease, and to test for interaction of the environment with a candidate gene.

Epigenetic modification of the DNA code can sometimes explain the discordance within MZ twin pairs. Differences in DNA methylation and gene expression are already evident in newborn MZ twins. Environmental and stochastic factors start in utero and operate throughout life. Studies of Alzheimer's disease, autism, bipolar disorder, cancer and systemic lupus erythematosus demonstrated the promise of the discordant twin design for epigenetics. Many twin registries all over the world have collected biological samples in different time points, and this allows for identifying epigenetic differences between twins that were present before the onset of discordance for some diseases. Longitudinal phenotypic information together with biological material collected by worldwide twin registries is an important resource for large-scale molecular and epidemiologic studies.

Twin registers have a great potential to contribute to understanding in nearly all areas related to human health and behavior. Population-based registers, when representative of the general population, are of enormous epidemiological interest. The unique characteristics of twin studies, including the ability to control both genetic and shared environmental background, allow for addressing questions that are not easily solved in any other research design and make them very useful for gene-environment transaction research or causal inference studies of common disease [3].

### References

- [1] Boomsma D, Busjahn A, Peltonen L. Classical twin studies and beyond. *Nat Rev Genet.* 2002;3(11):872-82
- [2] van Dongen J, Slagboom PE, Draisma HH, Martin NG, Boomsma DI. The continuing value of twin studies in the omics era. *Nat Rev Genet.* 2012 Sep;13(9):640-53.
- [3] Odintsova VV, Willemsen G, Dolan CV, Hottenga JJ, Martin NG, Slagboom PE, Ordoñana JR, Boomsma DI. Establishing a Twin Register: An Invaluable Resource for (Behavior) Genetic, Epidemiological, Biomarker, and 'Omics' Studies. *Twin Res Hum Genet.* 2018 Jun;21(3):239-252.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РАЗВИТИЕ МИОМЫ МАТКИ ПО ПУТИ МНОЖЕСТВЕННЫХ ИЛИ ЕДИНИЧНЫХ УЗЛОВ.

Осиновская Н.С., Малышева О.В., Швед Н.Ю., Султанов И.Ю., Ефимова О.А., Пендина А.А., Кольцова А.С., Ярмолинская М.И., Баранов В.С.

ФГБНУ «НИИАГиР им Д.О.Отта», Россия, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3.  
[natosinovskaya@mail.ru](mailto:natosinovskaya@mail.ru)

Миома матки является наиболее распространенным гинекологическим заболеванием, которому подвержено 45% женщин репродуктивного возраста. До настоящего времени не выявлено главного пускового механизма данной патологии. В последние годы все большее внимание привлекает исследование генетических факторов, приводящих к развитию миомы матки.

Наиболее хорошо изучены на данный момент соматические мутации, характерные для миоматозных узлов. Мутации в гене *MED12* были нами выявлены у 72% женщин с миомой матки в 53% узлов. Данные мутации более характерны для узлов множественной миомы (обнаружены в 62% узлов против 32% в единичных миомах). Мутации гена *MED12* в разных узлах миомы у одной пациентки имеют независимое происхождение. Другое типичное нарушение - гиперэкспрессия гена *HMGA2*. характерно для одиночных миом (выявлена в 30% единичных узлов против 7% при множественных миомах). Таким образом, генетические детерминанты множественной и единичной миомы различаются. Кроме того, в клеточных культурах миом были выявлены аномалии кариотипа в 38% случаев. В том числе сложные перестройки – 67%, делеция в 7 хромосоме - 8%, трисомия 12 – 8%, в 17% мы зарегистрировали результат хромотрипсиса. Хромотрипсис характерен для крупных одиночных узлов миомы, в то время как другие хромосомные перестройки возникают как в единичных, так и во множественных узлах.

Для анализа генетической предрасположенности к развитию единичной и множественной миомы матки мы проанализировали генотипы по полиморфным вариантам генов *ESR1*, *PGR*, *MMP1* и *COMT* у 256 женщин. Мы показали, что генотип Val/ Val гена *COMT* (rs4680) достоверно чаще встречался у женщин с множественной миомой (40% против 12% при единичных узлах). Также у пациенток с множественной миомой достоверно чаще встречается генотип GG гена *ESR1* (rs9340799) -17,8% по сравнению с пациентками, имеющими единичные узлы (1,8%). Частота данного генотипа в группе контроля составила 8,5%, а в общей группе пациенток с миомой матки - 8,9%.

Таким образом, мы показали, что единичные и множественные миомы не только различаются между собой по типу происходящих в них генетических нарушений, но и имеют разную вероятность развития в зависимости от генотипа пациентки. Триггером роста единичных узлов миомы может являться гиперэкспрессия гена *HMGA2*, хромотрипсис или некоторые виды хромосомных перестроек; причины независимого возникновения множественных узлов миомы, часто имеющих независимо возникающие соматические мутации гена *MED12*, остаются неизвестными.

## ЭВОЛЮЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МАРКЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ИНДЕКСОМ МАССЫ ТЕЛА И ОЖИРЕНИЕМ

Попович А.А.<sup>1</sup>, Бочарова А.В.<sup>1</sup>, Вагайцева К.В.<sup>1</sup>, Трифонова Е.А.<sup>1</sup>, Степанов В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики

Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук",

Россия, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10

[anastasia.cherednichenko@medgenetics.ru](mailto:anastasia.cherednichenko@medgenetics.ru)

Ожирение является одной из серьезных проблем в современном мире. Данное многофакторное заболевание распространено в развитых странах, но в последние годы его частота резко увеличилась и в развивающихся странах. Показателем для определения ожирения служит индекс массы тела (ИМТ). Наследственная составляющая данного фенотипа активно исследуется, что позволило выявить множество генетических маркеров, связанных с ожирением, однако данные об ассоциации этих маркеров часто различаются в отдельных популяциях. Одним из перспективных направлений исследования является эволюционно-генетический подход, позволяющий выявить причины происхождения и распространение заболеваний в популяциях.

В настоящей работе был использован этот подход при изучении генетической архитектуры ожирения. Исследовано 51 SNP, связанных с ИМТ и ожирением по данным нескольких GWAS, в 14 популяциях Северной Евразии и 43 мировых популяциях из проектов «1000 геномов» и HGDP (суммарный объем обследованных выборок составил 3658 индивидов). Выявлена корреляция частот аллелей и генетического разнообразия по изученным генетическим маркерам с климато-географическими факторами (абсолютная широта, абсолютная долгота, температура наиболее теплого и холодного месяцев, среднегодовая температура, разброс температур и среднегодовой уровень осадков). Исследовано влияние естественного отбора на вариабельность спектра частот аллелей по 51 SNP с помощью тестов, основанных на частотах аллелей (тест Юинса-Ваттерсона) и на генетической дифференциации (FDIST). Результаты данных тестов свидетельствуют о действии естественного отбора на ряд генов (*POC5*, *NRXN3*, *LOC105378797*, *AD11*, *ZC3H4*, *FTO*), что связано, вероятно, с адаптивной значимостью исследованных локусов.

Таким образом, в работе изучена генетическая составляющая ожирения в широком спектре популяций человека в рамках эволюционного подхода. Обнаруженная закономерность изменения генетического разнообразия отражает гипотезы «предковой предрасположенности» и деканализации Гибсона. Полученные данные свидетельствуют о связи распространенности ожирения в современных популяциях человека с адаптацией изученных популяций к новым условиям среды обитания по мере расселения по территории земного шара.

Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ № 18-04-00758.

## НЕКОРОНАРОГЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ СЕРДЦА – ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВЕРИФИКАЦИЯ ДИАГНОЗА

Сивицкая Л.Н.<sup>1</sup>, Вайханская Т.Г.<sup>2</sup>, Левданский О.Д.<sup>1</sup>, Курушко Т.В.<sup>2</sup>, Даниленко Н.Г.<sup>1</sup>, Давыденко О.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии Национальной Академии Наук Беларуси,  
ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Беларусь, cytoplasmic@mail.ru

<sup>2</sup>Республиканский научно-практический центр «Кардиология»,  
ул. Р. Люксембург, 110б, 220036, г. Минск, Беларусь  
cytoplasmic@mail.ru

Некоронарогенные заболевания сердца (НКЗС) - гетерогенная группа патологии миокарда с клиническими проявлениями аномальной сократимости, возбудимости и проводимости при отсутствии поражения коронарных артерий. В Беларуси чаще регистрируются гипертрофическая и дилатационная кардиомиопатии, реже аритмогенная правожелудочковая и неклассифицированная кардиомиопатия с некомпактным миокардом. Эти нозологические группы отличаются повышенным риском развития жизнеугрожающих сердечных аритмий. Генетическая детерминированность НКЗС варьирует от 20 до 35%.

Цель: определить спектр генов, вовлеченных в развитие НКЗС у жителей Беларуси. В исследование включили две группы пациентов - лица с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП, n=41) и неклассифицируемой кардиомиопатией с некомпактным миокардом (НКНМ, n=17). Критерием включения пациентов в исследование было наличие фенотипа НКЗС с диагностическими признаками, подтверждающими нозологию ДКМП и НКНМ с I-III ФК по NYHA.

Анализ ДНК пациентов выполнен на приборе MiSeq System с использованием панели TruSight Cardio Sequencing Kit (Illumina Inc., USA), охватывающей 174 гена, ассоциированных с кардиомиопатиями различного генеза. Патогенность вариантов определялась на основе руководств по интерпретации данных NGS [1].

В группе ДКМП наиболее частой (7,3%) генетической причиной заболевания были мутации в гене ламинов А/С (LMNA). Выявлено носительство патогенных вариантов в генах нексилина (NEXN), десмоплакина (DSP), фактора альтернативного сплайсинга RBM20 и митохондриального белка ядерного кодирования SLC25A4, вовлеченного в транспорт АДФ/АТФ. Отметим, что в трех случаях (7,3%) были обнаружены мутации в гене лизосома-ассоциированного белка (LAMP2), связанного с развитием одной из форм гликогеноза - болезни Данона. В нашей выборке у носителей LAMP2-мутаций эта болезнь фенотипически манифестировала в виде ДКМП.

В группе НКНМ наиболее частой генетической причиной заболевания были мутации в генах, кодирующих белки саркомеров (ACTC1, MYH7, MYH6, TTN), а также субъединицы ионных каналов (SCN5A, KCNQ1, SCN1B). Выявлены единичные случаи носительства мутаций в генах ILK, PLN, RYR2.

В целом, метод NGS позволил обнаружить патогенные или вероятно-патогенные варианты, ответственные за развитие НКЗС, в 33% случаев.

[1]. Рыжкова О.П., Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования // 2017, Мед. ген., № 7, С.4-17.

Работа выполнена при финансовой поддержке НТП Союзного государства «ДНК идентификация».

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ *IL17F* (RS763780, RS2397084) В ПАТОГЕНЕЗЕ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

Смольникова М.В.<sup>1</sup>, Горбачева Н.Н.<sup>1</sup>, Коноплева О.С.<sup>1,2</sup>, Смирнова С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера ФИЦ КНЦ СО РАН, Российская Федерация, Красноярск

<sup>2</sup> - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, Красноярск

[smarinv@yandex.ru](mailto:smarinv@yandex.ru)

Бронхиальная астма (БА) представляет собой сложное гетерогенное заболевание с рядом молекулярных иммунопатологических механизмов, лежащих в основе воспаления дыхательных путей, гиперреактивности и ремоделирования бронхов. IL-17F обнаружен в дыхательных путях астматиков, и уровень его экспрессии коррелирует с тяжестью заболевания [1, 2].

Целью исследования было изучение распределения *IL17F* (rs763780, rs2397084) у больных атопической бронхиальной астмой (АБА) с различным уровнем контроля заболевания у детей европеоидного происхождения. Объектами исследования были дети, больные тяжелой/среднетяжелой АБА с различным уровнем контроля над течением заболевания (n=211): с контролируемым (n=101) и неконтролируемым течением (n=110). Контрольная группа – практически здоровые жители Восточной Сибири европеоидного происхождения (n=135). Диагноз, степень тяжести, уровень контроля над течением заболевания устанавливались в соответствии с рекомендациями GINA.

В результате исследования впервые получены данные о распределении генотипов полиморфизмов *IL17F* у больных АБА и в популяционной выборке г. Красноярск. Редкими аллельными вариантами являются *G IL17F* (rs763780 и rs2397084), что согласуется с данными мировой литературы. Показаны статистически значимые отличия в распределении генотипов *AG* и *GG IL17F* (rs763780): частота генотипа *AG* у больных контролируемой формой АБА статистически значимо выше, чем в популяционной выборке (15,8% vs 6,7%, OR 2,84 (1,25-6,45), p=0,01). Распределение генотипов *IL17F* (rs2397084) также статистически значимо отличается между больными АБА детьми и популяционной выборкой: у больных с неконтролируемым течением заболевания генотип *GG* значительно чаще встречается в сравнении с популяционной выборкой (17,3% vs 2,2%, OR 9,19 (2,64-31,96), p=0,000005). Эти результаты согласуются с данными литературы, которые свидетельствуют о патобиологической роли IL-17 именно в отношении тяжелой формы БА и неконтролируемого течения заболевания[3].

Указанные генотипы *IL17F* предположительно могут быть генетическими маркерами риска развития неконтролируемого течения атопической бронхиальной астмы у детей.

[1]. Nakajima H, Hirose K., Role of IL-23 and Th17 cells in airway inflammation in asthma. // 2010, Immune Netw., V.10, P.1–4.

[2]. Kawaguchi M, et al, Role of interleukin-17F in asthma. // 2009, Inflamm Allergy Drug Targets, V.8, N.5, P.383-389.

[3]. Bijanzadeh M, et al, An understanding of the genetic basis of asthma. // 2011, Indian J Med Res., V.134, P.149-161.

## ОСОБЕННОСТИ САТЕЛЛИТНОЙ ДНК ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО КОНСТИТУТИВНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА ХРОМОСОМ 1, 9, 16 В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ И ЭКСТРАЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЯХ ЧЕЛОВЕКА

Трофимова И.Л.<sup>1,2,3</sup>, Евдокименко Е.В.<sup>4</sup>, Кузнецова Т.В.<sup>5</sup>, Добрынин М.А.<sup>4,6</sup>,  
Енукашвили Н.И.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Россия, г. Санкт-Петербург, 197341, ул. Аккуратова, 2; <sup>2</sup> Международный центр репродуктивной медицины, Россия, г. Санкт-Петербург, 197350, Комендантский 53 к.1, лит. А, пом. 19 Н; <sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, Россия, г. Санкт-Петербург, 194044, ул. Академика Лебедева, 6; <sup>4</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб. 7/9; <sup>5</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта», г. Санкт-Петербург, 199034, Менделеевская линия, д.3; <sup>6</sup> ФГБУ науки Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург, 194064, Тихорецкий проспект 4,  
[il\\_trofimova@list.ru](mailto:il_trofimova@list.ru)

Тандемно-повторяющиеся массивы сателлитной ДНК формирует значительную часть конститутивного гетерохроматина (КГХ) в кариотипе человека. Исследования по организации и функционированию сателлитной ДНК способствуют пересмотру бытовавшего долгое время представлению о «мусорном» характере этой части генома. В собственных исследованиях для анализа структурно-функциональных особенностей сателлитной ДНК КГХ в клетках ворсинчатого хориона и эмбриональных органов, мы использовали краситель акридиновый оранжевый, который по-разному окрашивает одно- и двуцепочечные нуклеиновые кислоты. После предобработок препаратов метафазных хромосом *in situ* с помощью протеолитических ферментов и эндонуклеаз и последующем их окрашиванием, мы показали наличие устойчивых белков и фрагментов нуклеиновых кислот в КГХ хромосом 1, 9, 16 в цитотрофобласте хориона и эмбриональных клетках, а также одноцепочечных нуклеиновых кислот и дуплексов РНК-ДНК в клетках цитотрофобласта, которые наиболее характерны для хромосомы 1. С помощью 3D FISH было изучено расположение КГХ хромосомы 1 в ядрах клеток ворсинчатого хориона и эмбриональных органов. Большинство FISH-сигналов локализовались в хромоцентрах, в непосредственной близости от ядерной оболочки клеток эмбриональных органов, ядрах плаценты и хориона после 5-6 н.б. На ранних сроках развития (4-5 н.б.) в интерфазных ядрах хориона очевидна тенденция к расположению районов КГХ к центру ядра, пограничное с хромоцентрами. Методом ПЦР с использованием обратной транскриптазы провели анализ транскрипции КГХ хромосомы 1 в клетках бластоцист, хориона и эмбриональных органов. Полиаденилированные «смысловые» транскрипты были выявлены в тканях ворсинчатого хориона, с 6 недели беременности (н.б.) по 10-11 н.б. В образцах хориона после 14 н.б. были обнаружены «антисмысловые» транскрипты. В эмбриональных органах транскрипты были выявлены на сроке 7 н.б. Во всех проанализированных тканях кроме сердца и надпочечников, после 10 н.б. транскрипция происходит с антисмысловой цепи ДНК. С помощью РНК FISH мы цитологически подтвердили наличие транскриптов КГХ на препаратах бластоцист и ворсинчатого хориона. Очевидно, обнаруженные особенности (окрашивание акридиновым оранжевым, расположение в ядре и по отношению к хромоцентрам, транскрипционная активность) обусловлены необычным структурно-функциональным статусом хроматина районов КГХ в эмбриогенезе человека и нуждаются в дальнейших исследованиях.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№18-34-00279).

## Симпозиум V: Генетические основы селекции / Symposium V: The Genetic Basis for Breeding

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ ПО УРОЖАЙНОСТИ И КАЧЕСТВУ ЗЕРНА

Абделькави Р.Н.Ф.

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49

[dr.ramynabil@mail.ru](mailto:dr.ramynabil@mail.ru)

Тритикале сочетает в себе потенциал урожайности, качества зерна пшеницы с болезнями и устойчивостью к воздействию окружающей среды. Испытания генотипов яровой тритикале на Полевой опытной станции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева в 2017 и 2018 гг. Анализ урожайности изучаемых образцов показал, что в целом образцы имели сравнительно высокий показатель – до 606 г/м<sup>2</sup>, что соответствует урожайности 60,6 ц/га. Урожайность сильно варьировала в зависимости от года исследований. 2017 г. характеризовался благоприятными погодно-климатическими условиями, что позволило сформировать высокий потенциал урожайности. Статистически достоверное превышение по урожайности в 2017 г. показали сорт Dublet (606 г/м<sup>2</sup>) и линия 131/1656 (546 г/м<sup>2</sup>). В 2018 г. все образцы показали урожайность на уровне Укро стандарта кроме сортов Гребешок (383 г/м<sup>2</sup>), Ярило (377 г/м<sup>2</sup>), Памяти Мережко (380 г/м<sup>2</sup>), а также линий 131/714, (390 г/м<sup>2</sup>), 6-35-5 (377 г/м<sup>2</sup>). Следует отметить, что сортообразцы 131/7, С238, 6-35-5, ПЛ-13-5-13 и П2-16-20 стабильно на протяжении обоих лет изучения имели урожайность на уровне стандарта.

Условия вегетационного периода 2017 г. были менее благоприятными для формирования белка и клейковины, чем 2018 г. В 2017 г. сорт Лана и линия П2-13-5-2 имели содержание белка 13,8% и 13,5% соответственно, что статистически достоверно выше, чем у стандарта – сорта Укро. Содержание белка в зерне свыше 16,6% в 2018 г. было отмечено у образцов: Ярило, Лана, Л8665, П2-13-5-2, П2-16-20. По содержанию клейковины сорт Лана и линии 131/7, П2-13-5-2 в 2017 г. достоверно превысили стандарт – сорт Укро. В 2018 г. все изученные сортообразцы достоверно превысили стандарт, кроме сортов Ульяна, Хлебодар харьковский, Dublet. Показана высокая положительная взаимосвязь между содержанием белка и содержанием клейковины ( $r=0,95$ ). В ходе исследований установлена отрицательная связь между содержанием белка и урожайностью, содержанием клейковины и урожайностью ( $r=-0,54$ ,  $r=-0,61$  соответственно).

Анализ числа падения показал, что все изученные сортообразцы имели низкие значения этого показателя в оба года исследования, кроме сорта Хлебодар харьковский в 2018 г. (201секунд), и находился в пределах 45-129,7 секунд.

В результате проведенных исследований дана характеристика сортов и селекционных образцов по показателям урожайности и качества зерна, а также выделены образцы для дальнейшей селекционной работы по созданию форм яровой тритикале с высокими хлебопекарными качествами.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНА *Lr19* В ОБРАЗЦАХ КОЛЛЕКЦИИ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ

Груздев И.В.<sup>1,2</sup>, Пырсигов А.С.<sup>1</sup>, Гарибян Ц.С.<sup>1,2</sup>, Коленков М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Российская Федерация, Москва, Тимирязевская, 42;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Российская Федерация, Москва, Тимирязевская, 49;

[gruzdev82mtz@mail.ru](mailto:gruzdev82mtz@mail.ru)

Тритикале – новая зерновая культура, активное распространение которой ставит ее в ряд наиболее хозяйственно востребованных культур. Наибольшую актуальность среди заболеваний тритикале в последнее время приобретает листовая ржавчина пшеницы, вызываемая патогеном *Puccinia triticina* Erikss. Листовая ржавчина – одно из серьёзных заболеваний, потери урожая от которой может достигать 50%.

Будучи аллополиплоидом, тритикале сочетает в себе гены устойчивости к листовой ржавчине пшеницы и ржи, и, следовательно, обладает большим разнообразием ответных и защитных реакций. На сегодняшний день имеются сведения о 75-и генах устойчивости к листовой ржавчине (*Lr*-гены). Многие *Lr*-гены к настоящему моменту утратили свою эффективность. Использование молекулярных ДНК-маркеров позволяет эффективно вести отбор устойчивых форм. С их помощью осуществляется скрининг коллекций сортов и линий на наличие доноров *Lr*-генов. Ген *Lr19* был перенесен пшенице от *Thinopyrum ponticum* в хромосомы пшеницы гомеологичной группы 7. Ген *Lr19* в течение длительного времени считается одним из самых надёжных и получил большое распространение. Однако, имеются сообщения, что в ряде регионов Российской Федерации этот ген уже не обеспечивает устойчивости.

В результате проведённого ПЦР-анализа с использованием маркера *LrAg* было установлено, что у 43 из 179 образцов коллекции яровой тритикале амплифицируется фрагмент около 800 п.н., близкий к фрагменту 811 п.н., характерному для положительного контроля – носителя гена *Lr19*, моногенной линии сорта Thatcher, причем 14 образцов оказались популяциями, в которых встречаются растения, не несущие данного гена.

Выделенные образцы могут быть использованы в селекционном процессе на устойчивость к листовой ржавчине.

## ПРОБЛЕМЫ СИСТЕМАТИКИ ПРИМИТИВНЫХ КУЛЬТУРНЫХ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ.

Гурина А.А., Костина Л.И.

ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская 42-44.

[a.gurina@vir.nw.ru](mailto:a.gurina@vir.nw.ru)

Картофель относится к клубнеобразующим видам секции *Petota Dumort* рода паслён *Solanum* L. Систематики выделяют в этой секции различные по составу и объёму серии. Для культурных видов картофеля создание общей системы и выделение видов осложняется их смешанным гибридогенным происхождением, а также скрещиванием этих видов. Разные исследователи выделяют от 3 до 21 культурных видов картофеля.

Примитивные культурные виды картофеля возделываются местным населением в горах Южной Америки. Большинство из них были собраны и описаны по результатам экспедиций С.М. Букасова и С.В. Юзепчука в 1920х годах [1]. Изначально было выделено 18 видов, но впоследствии часть из них переведена в ранг подвида или стала синонимами. В современной коллекции ВИР выделяют 10 примитивных культурных видов картофеля.

Другой вариант систематики картофеля был создан J.Hawkes[2]. Он рассматривал виды как комплексы вариаций, в результате его виды более объёмны, чем те которые выделил С.М.Букасов. В его системе всего 6 примитивных культурных видов.

У большинства исследователей выделение *S.juzepczukii*, *S.curtilobum*, *S.ajanhuiri* в качестве отдельного вида или подвида не вызывает вопросов. Другие виды довольно сильно различаются в разных системах. Например все триплоиды, кроме *S.juzepczukii* у J.Hawkes относятся к *S.chaucha*, а в других системах они либо относятся к отдельным видам (*S.mammilliferum*, *S.tenuifilamentum*, *S.surimana*), либо включены в разные таксоны в качестве подвидов (*S.phureja subsp chocclo*, *S.rybinii subsp canarense* и др). В результате чего сравнение результатов исследований этих групп становится невозможным.

Ключевыми проблемами в систематике культурных видов картофеля являются:

- Отсутствие чётко описанных различий между видами. Большинство культурных видов картофеля полиморфны и хорошо гибридизируют между собой. Далеко не для всех видов описано разнообразие форм, в результате нет и чёткого понимания объёма видов.
- Большая часть работ по систематике выполнена на коллекциях, в которых материал выращивают в условиях далёких от характерных для природного местообитания этих групп. В результате изучается не характерный вариант фенотипа, а наиболее приспособленный к данным условиям среды, часто близким к критическим.

Примитивные культурные виды источник хозяйственно-ценных признаков. При использовании их для дальнейшей селекции необходимо чёткое понимание характеристик каждого образца, которое сильно осложняется из-за трудностей в определении видов.

[1]. Лехнович В.С. Культурная флора СССР. Культурные виды картофеля. Л.: Колос; 1971.

[2]. Hawkes J.G. The potato: evolution, biodiversity and genetic resources. London: Belhaven Press; 1990.

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПРОМОТОРАХ pro-SmAMP1 И pro-SmAMP2 ИЗ РАСТЕНИЯ *STELLARIA MEDIA*

Ефремова Л.Н., Комахин Р.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии”, Россия, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42

[efremova.larisa.nikolaevna@gmail.com](mailto:efremova.larisa.nikolaevna@gmail.com)

Изучение промоторов необходимо для понимания координированной экспрессии генов в клетках растений. Ранее при транзientной экспрессии в растениях *N. benthamiana* промоторы генов гевеин-подобных пептидов из растения мокрицы (*S. media*) pro-SmAMP2 (-455 п.н.) и pro-SmAMP1 (-422 п.н.) оказались, соответственно, в 2 и 4 раза сильнее, чем вирусный промотор CaMV35S [1]. Одновременно pro-SmAMP2 был достоверно более конститутивен в растениях табака, чем pro-SmAMP1, и по эффективности контроля селективного гена *nptII* сопоставим с дублированным промотором 2xCaMV35S. Примечательно то, что нуклеотидные последовательности промоторов из мокрицы идентичны на 94 % и различаются 21 точечной заменой или инсерцией/делецией.

Дополнительный делеционный анализ показал, что минимальные варианты pro-SmAMP1 (-119 п.н.) и pro-SmAMP2 (-121 п.н.) сохранили свои лучшие свойства, а их нуклеотидные последовательности также высоко идентичны и различаются только 9 точечными мутациями вне цис-действующих элементов, которые полностью одинаковы у обоих промоторов. Эти результаты свидетельствуют, что для высокой эффективности в клетках растений достаточно последовательностей промоторов размером -121-119 п.н. Полиморфизм между нуклеотидными последовательностями двух промоторов заинтересовал нас в связи с возможностью создания новых эффективных промоторов, сочетающих одновременно высокую активность и конститутивность.

С целью выявления регуляторных полиморфизмов ответственных за различия в свойствах pro-SmAMP1 (-119 п.н.) и pro-SmAMP2 (-121 п.н.) методом сайт-направленного мутагенеза было создано 9 новых вариантов промотора pro-SmAMP2 путем внесения в его последовательность одно-двунуклеотидных мутаций, представленных у pro-SmAMP1. Мутантные варианты промотора использовались для контроля экспрессии репортерного гена *gus* в генетических конструкциях для трансформации растений. Методом агроинфильтрации *N. benthamiana* показано, что эффективность трех из девяти мутантных вариантов pro-SmAMP2 возросла до уровня pro-SmAMP1. Эти изменения были обусловлены заменами нуклеотидов С на АТ в области между ТАТА-боксом и сайтом инициации транскрипции. На следующем этапе будет установлено влияние обнаруженных мутаций на конститутивность pro-SmAMP2.

Работа поддержана РФФИ в рамках научного проекта № 19-016-00067.

Список литературы

[1]. Маджарова Н.В. и др., Промоторы pro-SmAMP1 и pro-SmAMP2 из дикорастущего растения *Stellaria media* для биотехнологии двудольных растений // 2018. Физиология растений. Т.65. №5. с.388–400.

## ФОРМИРОВАНИЕ ГЕНОМОВ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ 1Rv(1A) × R F<sub>5</sub> ПОКОЛЕНИЯ

Логинова Д.Б.<sup>1</sup>, Иванова Ю.Н.<sup>1</sup>, Соловей Л.М.<sup>2</sup>, Бондаревич Е.Б.<sup>2</sup>, Сычева Е.А.<sup>2</sup>,  
Дубовец Н.И.<sup>2</sup>, Силкова О.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Российская Федерация, 630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева 10;

<sup>2</sup>ГНУ ИГЦ НАН Беларуси, Республика Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27.

[kabanenko@bionet.nsc.ru](mailto:kabanenko@bionet.nsc.ru)

Процесс реорганизации пшенично-ржаных гибридных геномов сопровождается элиминацией геномов, хромосом, а также структурными изменениями хромосом ржи и пшеницы. Основная масса работ по изучению реорганизации геномов выполнена у амфидиплоидов, полученных с помощью колхицинирования. В данной работе проведен анализ кариотипов и поведения хромосом в мейозе трех потомств F<sub>5</sub> поколения пшенично-ржаных гибридов, полученных в результате мейотической реституции при скрещивании замещенной линии 1Rv(1A) с рожью.

Анализ кариотипов потомств №1 и №2 выявил элиминацию от 10 до 12 хромосом ржи в ранних поколениях: в кариотипе гибрида F<sub>2</sub> 1Rv(1A) × R обнаружено 46 хромосом, из них три пары хромосом ржи 1R1R4R4R2RL2RL, 1R1R замещали хромосомы 1A1A, а 2RL2RL и 4R4R были дополненными к комплекту хромосом пшеницы. Половина растений F<sub>5</sub> имеет 44 хромосомы, где хромосома 4R является дополненной, а 1R замещает хромосому пшеницы 1A. Четверть растений имеет 42 хромосомы, в кариотипах которых хромосома 4R замещает хромосомы 4A и 4B. Получены растения с замещением 1R/1A (2n=42), предположительно хромосома 1R является результатом рекомбинации хромосом ржи замещенной линии сорта Вятка и сорта Онохойская, использованной в скрещивании. Центрические пшенично-ржаные транслокации с гибридной центромерой и хромосомы ржи с амплификацией субтеломерного гетерохроматина с высокой частотой встречались в потомстве №2. В потомстве №3 растения имели близкое к октоплоидному число хромосом (от 52 до 56), из них у 76.19% растений обнаружены 16 хромосом ржи.

У гибридов F<sub>5</sub> первых двух групп в мейозе формировались униваленты и микроядра. У растений F<sub>5</sub> группы №3 выявлено нормальное поведение хромосом в MI и AI, однако у ряда растений второе деление мейоза отсутствовало, в результате чего в конце деления формировались диады. Процент диад варьировал от 21.9 до 100%. Сопоставление результатов, полученных по мейозу у отдельных растений с их фертильностью, показало, что стерильность и низкая завязываемость зерен характерны для растений с высокой частотой формирования диад.

Таким образом, несмотря на одинаковые мейотические механизмы восстановления фертильности у пшенично-ржаных гибридов F<sub>1</sub>, характер реорганизации хромосомного состава у гибридов последующих поколений не идентичен. Формирование нередуцированных гамет в F<sub>5</sub> поколении приводит к стерильности растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ №16-16-0011 и БРФФИ №Б15СО-030

## АЛЛЕЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНА ПОЛА *csd* МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ В УСЛОВИЯХ ПЛЕМЕННОГО ХОЗЯЙСТВА И ЕСТЕСТВЕННОГО РАЗВЕДЕНИЯ

Каскинова М.Д., Салтыкова Е.С., Николенко А.Г.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Россия, Уфа, проспект Октября, д. 71, 1Е.

[kaskinovamilyausha@mail.ru](mailto:kaskinovamilyausha@mail.ru)

У медоносной пчелы *Apis mellifera* L. пол определяется аллельной комбинацией гена *csd*. При гетерозиготном состоянии *csd* из оплодотворенной яйцеклетки развивается женская особь, при гомозиготном – нежизнеспособная диплоидная мужская особь. Фертильные трутни у медоносной пчелы развиваются из неоплодотворенных яиц. В базе данных GenBank представлено более 200 аллелей *csd* *A. mellifera*. Целью исследования была оценка аллельного разнообразия гена *csd* на российских пасеках в целом и его сохранность в условиях племенного хозяйства и при естественном разведении.

Нами были получены аминокислотные последовательности гипервариабельного участка (ГВУ) гена *csd* для 148 трутней. Выборки, находящиеся в условиях племенного разведения, представлены тремя подвидами – *A.m.mellifera* (42 трутня из 15 семей, Иглинский р-н), *A.m.carpatica* (23-14) и *A.m.carnica* (56-30, обе Чишминский р-н). В качестве условий естественного разведения, взята бурзянская популяция *A.m.mellifera* (27-19).

В выборках с племенных пасек выявлено 20 различных аллелей ГВУ у *A.m.mellifera*, 16 аллелей у *A.m.carpatica* и 31 аллелей у *A.m.carnica*. В естественной популяции *A.m.mellifera* обнаружено 21 аллель. Больше всего редких аллелей (встречающихся в работе один раз) обнаружено в выборках *A.m.carnica* (21) и *A.m.mellifera* из бурзянской популяции (15). В выборке *A.m.carpatica* 11 редких аллелей, в иглинской – 7. В целом из 148 аллелей было выявлено 71 редких аллелей. Общие аллели обнаружены у *A.m.carpatica* и *A.m.carnica* (5), *A.m.mellifera* из Иглинского и Бурзянского районов (4), *A.m.mellifera* и *A.m.carnica* (3). Сравнение полученных аллелей ГВУ с данными GenBank, показало наличие 14 новых аллелей в нашей выборке. Из них 5 принадлежат выборке *A.m.carnica*, 5 – бурзянской, 3 – иглинской и 1 - *A.m.carpatica*.

Таким образом, было показано, что все исследуемые выборки *A. mellifera* имеют высокое аллельное разнообразие гена пола, однако больше редких и новых аллелей обнаружено в бурзянской популяции, несмотря на относительно малый размер выборки, т.е. естественная подразделённая популяция общей численностью в 5 тыс. семей хорошо справляется с поддержанием своего биоразнообразия. Большая часть семей пчел, обитающая в условиях племенной пасеки, несмотря на постоянное добавление новых плодных маток, имеют много общих аллелей. Оценка аллелей гена пола позволяет оптимизировать число семей и обеспечивает более направленное ведение племенного дела.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-44-020648

## ВЛИЯНИЕ ИЗОГЕНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ НА ЛОКОМОТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ ИМАГО *DROSOPHILA MELANOGASTER*, МУТАНТНЫХ ПО ГЕНУ *WHITE*.

Костенко В.В., Бабынин Э.В.

Казанский федеральный университет, ИФМиБ,

Россия, г. Казань, 420008, ул. Кремлевская 18

[vvkostenko1@gmail.com](mailto:vvkostenko1@gmail.com)

*Drosophila* – классический модельный объект для изучения генетической архитектуры сложных количественных признаков, включая поведение. Локомоторная активность (ЛА) представляет собой физиолого-биохимический признак, имеющий эволюционное значение, который охватывает сенсорную обработку, интеграцию стимулов, исполнительные функции и пути формирования движения. Однако генетическая основа данного поведения в значительной степени не охарактеризована. Целью работы: изучить влияние изогенизации хромосом и замещения генетического фона в проявлении ЛА имаго дрозофилы, мутантных по локусу *white*.

В работе использовали аутбредную неселектируемую линию дикого типа *Csnton-S*, а также аутбредные мутантные линии локуса *white* –  $w^1$ ,  $w^a$  и  $w^{sat}$ . Изогенизацию 2 и 3 хромосом проводили по стандартной системе скрещиваний с использованием тестерной линии *Sy/Pm;D/Sb*. Для изучения влияния замещения генетического фона на признак ЛА проводили насыщающие скрещивания мутантных линий с линией дикого типа в условиях направленного отбора на маркерную мутацию. Мух культивировали на стандартной сахарно-дрожжевой среде при температуре 23°C. ЛА имаго оценивали индивидуально для самок и самцов 3-х дневного возраста по методу «открытого поля». Анализ данных проводили с использованием программного обеспечения STATISTICA 8.0.

Процедура замещения генетического фона необходима для изучения влияния отдельных локусов в проявлении количественных признаков. Анализ показал, что аллели локуса *white* в результате замещения генетического фона играют существенную роль в проявлении ЛА ( $\eta^2_{аллель} = 16,68$ ,  $F = 118$ ,  $p < 0,05$ ;  $\eta^2_{ген.фон} = 0,12$ ,  $F = 1,46$ ,  $p = 0,22$ ;  $\eta^2_{ал+ген.фон} = 3,31$ ,  $F = 20$ ,  $p < 0,05$ ). При изучении влияния изогенизации на формирование ЛА имаго наблюдалось существенное увеличение признака по сравнению со значениями ЛА исходных мутантных линий и линий с замещенным генетическим фоном ( $\eta^2_{аллель} = 8,45$ ,  $F = 37$ ,  $p < 0,05$ ;  $\eta^2_{isogen.} = 12,13$ ,  $F = 111$ ,  $p < 0,05$ ;  $\eta^2_{ал.+isogen.} = 5,16$ ,  $F = 22$ ,  $p < 0,05$ ). В эксперименте также наблюдали пол-специфическое проявление ЛА при замещении генетического фона ( $\eta^2_{пол} = 4,17$ ,  $F = 52$ ,  $p < 0,05$ ) и при изогенизации хромосом ( $\eta^2_{пол} = 5,28$ ,  $F = 45$ ,  $p < 0,05$ ).

Показано, что изогенизация 2 и 3 хромосом является сильным фактором, увеличивающим уровень ЛА имаго дрозофилы, мутантных по гену *white*.

**Благодарности:** к.б.н. Иовлевой Ольге Вадимовне за предоставленные линии *D.melanogaster*

## ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ И ФЛАВОНОИДОВ В ПЛОДАХ ТОМАТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ИХ ГЕНОВ

Некрашевич Н.А.<sup>1</sup>, Бабак О.Г.<sup>1</sup>, Никитинская Т.В.<sup>1</sup>, Яцевич К.К.<sup>1</sup>, Пугачева И.Г.<sup>2</sup>,  
Добродькин М.М.<sup>2</sup>, Кильчевский А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, ул. Академическая 27.

<sup>2</sup>Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, Беларусь, Горки, ул. Мичурина, 5

[N.Nekrashevich@igc.by](mailto:N.Nekrashevich@igc.by)

Результативность селекции томата на качество основывается на успешном совмещении классических методов и методов молекулярно-генетического анализа. Такой подход существенно сокращает сроки реализации селекционной программы за счет эффективного подбора родительских пар и раннего выявления генотипов с интересующей комбинацией аллелей в последующих поколениях.

Целью наших исследований является изучение особенностей накопления каротиноидов и флавоноидов в плодах томата в зависимости от аллельного состава генов, влияющих на их биосинтез.

Изучен полиморфизм структурных генов и генов транскрипционных факторов, определяющих накопление каротиноидов и флавоноидов. Разработаны методы ДНК-идентификации структурных генов каротиноидной изомеразы *CRTISO* (*t*), хромопласт-специфической ликопин-β-циклазы *CYCB* (*B*, *b*, *og*, *og<sup>c</sup>*); регуляторных генов контроля клеточного цикла хлоропластов *High pigment* (*hp-1*, *hp-2<sup>dg</sup>*), деградации хлорофилла *Green flesh* (*gf-3*, *gf-4*) и синтеза флавоноидов: антоциана *Anthocyanin1* (*ant*), халкона *SIMYB12* (*Y*, *y*). Методами классической селекции созданы гибриды F<sub>1</sub> и проведены отборы форм в последующих поколениях с комплексом ценных аллелей, повышающих накопление каротиноидов и флавоноидов: *t* – проликопина, *B* – β-каротина, *og* и *og<sup>c</sup>* – ликопина, *ant* – антоциана, *Y* – халкона, способствующих увеличению числа и размеров хлоропластов *hp-1*, *hp-2<sup>dg</sup>* и препятствующих разрушению хлорофилла *gf-3*, *gf-4*.

Проведен биохимический анализ состава плодов томата методами спектрофотометрии и ВЭЖХ. Установлено, что гены *gf-3* и *hp-2<sup>dg</sup>* способствуют увеличению накопления каротиноидов, детерминированных основными структурными генами, задерживая период созревания на 5-10 дней. Показано, что использование образцов с геном *hp-2<sup>dg</sup>* в качестве материнской формы обеспечивает образование большего количества ликопина по сравнению с комбинациями, где образец с геном *hp-2<sup>dg</sup>* использовался в качестве отцовской формы. Формы с аллелем *y*, определяющим отсутствие синтеза халкона, накапливают больше каротиноидов чем с аллелем *Y*, обеспечивающим его синтез в плодах при одинаковой комбинации иных структурных и регуляторных генов биосинтеза каротиноидов. Выявлены сочетания аллелей с максимальным накоплением проликопина – *t/hp-2<sup>dg</sup>/y*, β-каротина – *B/hp-2<sup>dg</sup>*, ликопина – *og<sup>c</sup>/gf-3*, *og<sup>c</sup>/hp-2<sup>dg</sup>/y*.

Созданные формы прошли испытание в условиях защищенного грунта, лучшие по комплексу хозяйственно-ценных признаков и биохимическому составу вовлечены в селекционный процесс для создания сортов с высоким качеством плодов.

## ОТВЕТ ГЕНОТИПОВ ЛЬНА НА ЗАРАЖЕНИЕ *Fusarium oxysporum*

Новаковский Р.О.<sup>1</sup>, Рожмина Т.А.<sup>1,2</sup>, Краснов Г.С.<sup>1</sup>, Кудрявцева Л.П.<sup>2</sup>, Дмитриев А.А.<sup>1</sup>, Мельникова Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Россия, Москва, ул. Вавилова, 32; <sup>2</sup>ФГБНУ "Федеральный научный центр лубяных культур", Россия, Торжок, ул. Луначарского, 35

[Olegovich46@mail.ru](mailto:Olegovich46@mail.ru)

Лен обыкновенный (*Linum usitatissimum* L.) используется для производства высококачественных тканей, полезных для здоровья продуктов питания, фармацевтических средств, а также композитных материалов. Гриб *Fusarium oxysporum* sp. *lini*, вызывающий фузариозное увядание, является наиболее вредоносным патогеном, ограничивающим возделывание льна и снижающим урожайность и качество продукции. Для получения высоких и стабильных урожаев экологически чистой продукции льноводства необходимо возделывание устойчивых сортов, однако молекулярные механизмы ответа растений льна на *F. oxysporum* и гены, обеспечивающие устойчивость растений к патогену, малоизучены. В нашей работе исследован ответ на заражение *F. oxysporum* на уровне транскриптома у восприимчивых и устойчивых к фузариозному увяданию сортов и линий льна, в том числе у генотипов, согласно классическому генетическому анализу имеющих различные гены устойчивости. Проведено секвенирование транскриптомов выбранных сортов и линий как в контрольных условиях, так и спустя 48 часов после заражения патогеном. С использованием NextSeq Illumina получено около 250 млн. прочтений длиной 80 нуклеотидов. Проведена фильтрация прочтений, совпадающих с последовательностями генома и транскриптома *F. oxysporum*. Сборка транскриптомов выполнена с помощью Trinity, транскрипты и их предсказанные белки аннотировали с использованием Trinotate. Прочтения картировали на собранные транскрипты при помощи bowtie2 и RSEM и анализировали число прочтений для каждого транскрипта с использованием пакета программ edgeR. Разработан скоринг для поиска генов с различными изменениями экспрессии между устойчивыми и восприимчивыми генотипами после заражения, и идентифицированы вероятные гены устойчивости к *F. oxysporum*. Анализ представленности функциональных групп генов (GSEA) проводили с использованием GSeq для генов с наибольшими изменениями экспрессии. Визуализацию изменений экспрессии генов для отдельных категорий Gene Ontology выполняли с помощью тепловых карт, построенных в edgeR. Наше исследование вносит вклад в определение ключевых механизмов ответа льна на заражение *F. oxysporum*, идентификацию генов устойчивости и разработку молекулярных маркеров для селекции сортов льна, несущих несколько генов устойчивости одновременно.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 16-16-00114.

## ЧАСТОТА И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГОМОЛОГИЧНОЙ РЕКОМБИНАЦИИ У ПОРОД ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ (*GALLUS GALLUS*)

Тишакова К.В.<sup>1,2</sup>, Малиновская Л.П.<sup>1,2</sup>, Волкова Н.А.<sup>3</sup>, Бородин П.М.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, Пирогова 1;

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. академика Лаврентьева 10;

<sup>3</sup>Федеральный научный центр животноводства ВИЖ им. Л.К. Эрнста, п. Дубровицы, дом 60

[k.tishakova@g.nsu.ru](mailto:k.tishakova@g.nsu.ru)

Гомологичная рекомбинация способствует формированию комбинативной изменчивости, которая может быть материалом для естественного отбора по адаптивным признакам и искусственного отбора по признакам продуктивности. Несмотря на наличие данных, свидетельствующих о существенной вариации уровня и распределения рекомбинации среди близкородственных видов, внутривидовая изменчивость по уровню рекомбинации у позвоночных, за исключением человека и мыши, практически не исследована. Домашние куры являются удачной моделью для изучения данной проблемы. Объект хорошо изучен: описан кариотип, аннотирован геном. Богатое разнообразие пород позволяет исследовать внутривидовую изменчивость рекомбинации, ее зависимость от направления и интенсивности селекции.

С помощью метода иммулокализации ключевых белков мейоза мы впервые определили число и локализацию точек рекомбинации в сперматоцитах на стадии пахитены у петухов шести пород разных направлений селекции: мясного – маран и кохинхин, яичного – русская белая и итальянская куропатчатая, мясо-яичного – первомайская и русская хохлатая.

Анализ общих рекомбинационных характеристик показал достоверное влияние породы ( $R^2=0.17$ ;  $p<0.01$ ), но не направления селекции ( $p=0.12$ ), на разнообразие рекомбинационных характеристик петухов. Вместе с тем выявлено существенное влияние индивидуального внутривидового разнообразия ( $R^2=0.28$ ;  $p<0.01$ ).

Примечательно, что породы, имеющие высокие уровни рекомбинации – это относительно молодые породы, созданные на основе скрещивания нескольких пород, в то время как породы с низкими уровнями рекомбинации (русская хохлатая, итальянская куропатчатая и кохинхин) – это старинные локальные породы.

Мы оценили рекомбинационные характеристики отдельных макрохромосом (длина синаптонемного комплекса, число рекомбинационных узелков, уровень кроссоверной интерференции) и построили их рекомбинационные карты. Оказалось, что, несмотря на межпородные различия по числу кроссоверов на хромосому, паттерны их распределения по гомологичным хромосомам оказались сходными.

Полученные оценки межпородного разнообразия по уровню рекомбинации могут быть полезными для разработки методов селекции кур на улучшение их общей и специфической комбинационной способности по признакам продуктивности.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 17-29-08019) и Министерства науки и высшего образования (проект # 0324-2019-0042 ФГБНУ «ФИЦ ИЦиГ СО РАН»)

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ *Glu-A1* И *Glu-B1* У ОБРАЗЦОВ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ

Турбаев А.Ж.<sup>1</sup>, Милюкова Н.А.<sup>1,2</sup>, Дудников М.В.<sup>2</sup>, Ермоленко О.И.<sup>3</sup>, Соловьев А.А.<sup>2,3</sup>

1 – Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49; 2 – Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии; 3 – Главный ботанический сад имени Н.В. Цицина,

[a.zh.turbayev@mail.ru](mailto:a.zh.turbayev@mail.ru)

Тритикале (*×Triticosecale* Wittmack), амфидиплоид пшеницы и ржи, по хозяйственной ценности сравнима с другими зерновыми культурами и заслуживает огромного внимания с точки зрения изучения ее хлебопекарных качеств.

В изученной коллекции яровой тритикале кафедры генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева зарегистрированы все известные для пшеницы аллельные состояния гена *Glu-A1*, аллели которого ассоциированы с качеством хлеба. Аллель  $Ax_2$  встречается у 52 образцов или 38%, аллель  $Ax_{null}$  – у 60 образцов или 44%,  $Ax_1$  – у 23 образцов или 18% изученных образцов.

Полученное распределение аллелей этого гена у изученных образцов, скорее всего, обусловлено тем, что до настоящего времени не велась целенаправленная селекция по запасным белкам и не происходило постепенное вытеснение из образцов нежелательного аллеля  $Ax_{null}$ , который ассоциирован с низким качеством зерна и встречается практически у половины образцов, представленных в коллекции. Можно предположить, что проведение скрещивание перспективных селекционных образцов с носителями аллелей  $Ax_1$  или  $Ax_2$  должно привести к повышению хлебопекарных качеств.

Анализ аллельного состояния гена *Glu-B1*, аллели которого также ассоциированы с хлебопекарными качествами, показал, что у изученных образцов яровой тритикале аллели  $Bx_6$  и  $Bx_{17}$  не зарегистрированы, а у 46% образцов встречался аллель  $Bx_7$ . Наличие аллелей  $Bx_{17}$  или  $Bx_7$  ассоциируются с высокими хлебопекарными качествами, в то время как аллель  $Bx_6$  – с плохими. У 8 образцов обнаружено наличие одновременно аллелей  $Ax_{null}$ , ассоциируемого с плохими хлебопекарными качествами и аллель  $Bx_7$ , который связан с высокими хлебопекарными качествами.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И СТРУКТУРНЫЙ АНАЛИЗ НОВЫХ ОРТОЛОГОВ ДИГИДРОАСКОРБАТРЕДУКТАЗЫ DHAR1 У ДИКОРАСТУЩИХ И КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ВИДОВ ТОМАТА (SOLANUM SECTION LYCOPERSICON)

Тяпкина Д.Ю.<sup>1,2</sup>, Слугина М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской Академии наук, 119071 Москва, Ленинский пр-т, 33, 2

<sup>2</sup>ООО "Научно-исследовательский институт селекции овощных культур", Россия, Москва, ул. Новодмитровская, д.2, к.2, 127015.

[daria\\_t@list.ru](mailto:daria_t@list.ru)

Повышение содержания L-аскорбиновой кислоты (витамина С) в плодах – один из трендов в селекции томата. В растительной клетке L-аскорбиновая кислота является антиоксидантом, необходимым для нейтрализации активных форм кислорода. Конечное содержание витамина С в плодах зависит не только от скорости его биосинтеза, но во многом и от интенсивности восстановления окисленной формы. Главный фермент, контролирующий рециркуляцию витамина С в плодах, – дигидроаскорбатредуктаза, которая кодируется геном *DHAR1*. Невзирая на важное хозяйственное значение данного гена, его структура и функции изучены у крайне ограниченного набора видов.

В настоящей работе впервые клонированы, секвенированы и описаны полноразмерные нуклеотидные последовательности гомологов *DHAR1* у 11 образцов дикорастущих и культивируемых видов томата (*Solanum* sect. *Lycopersicon*), различающихся содержанием витамина С.

Все гены-гомологи имели одинаковую структуру и состояли из шести экзонов и пяти интронов. Длина нуклеотидных последовательностей значительно варьировала от 4046 пн. (*S. lycopersicum*) до 4266 пн. (*S. peruvianum* var. *dentatum*), что обусловлено наличием инделей в интронах. Среди них есть как видоспецифичные, так и характерные исключительно для группы зеленоплодных или красноплодных видов. Общий уровень полиморфизма ортологов *DHAR1* был достаточно высок (10,8%) по сравнению с другими белок-кодирующими генами, описанными у исследуемых видов томата ранее. В экзонных последовательностях выявлено 42 SNPs (уровень полиморфизма кДНК – 6,63%).

Аминокислотная вариабельность соответствующих белков составила 9%, за счет наличия 19 вариабельных сайтов, включающих радикальные замены. Выявлен консервативный глутатиондегидрогеназный домен, общий для белков дигидроаскорбатредуктаз (*DHAR1*) и глутатион-S-трансфераз (*DHAR2*). Также найдено 6 консервативных мотивов, общих как для всех исследуемых белков-ортологов *DHAR1*, так и для родственного белка *DHAR2* томата. У исследуемых белков *DHAR1* показано отсутствие сигнального пептида, что может свидетельствовать о цитоплазматической локализации фермента.

Таким образом, в настоящей работе впервые описан высокий уровень нуклеотидного полиморфизма *DHAR1* и показано сохранение консервативной белковой структуры дигидроаскорбатредуктазы у различных видов томата.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 18-316-00033) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

## ИЗУЧЕНИЕ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ОЗИМОМУ СОРТУ БЕЗОСТАЯ 1 С КОМБИНАЦИЕЙ ДОМИНАНТНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ЛОКУСОВ *VRN-1*

Чуманова Е.В.<sup>1</sup>, Ефремова Т.Т.<sup>1</sup>, Кручинина Ю.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», пр. акад. Лаврентьева, 10

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет», Россия, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160.

[chumanova@bionet.nsc.ru](mailto:chumanova@bionet.nsc.ru)

Гены чувствительности к яровизации (*VRN*) являются основными генетическими системами, определяющими продолжительность вегетационного периода мягкой пшеницы. К настоящему времени для локусов *VRN-1* описан ряд аллелей и разработаны аллель-специфичные праймеры, позволяющие проводить быструю идентификацию аллельного состава у сортов и линий. Установлено неодинаковое влияние различных аллелей локусов *VRN-1* на продолжительность вегетационного периода, однако недостаточно исследований, касающихся влияния комбинации различных аллелей на время колошения. Изучение влияния комбинаций аллелей *VRN-A1* и *VRN-B1* на длительность вегетационного периода представляет наибольший интерес для России и Западной Сибири в частности, поскольку тип развития большинства сортов, характерных для данной территории, определяется аллелями этих двух доминантных генов.

В рамках данной работы две почти изогенные линии по сорту Безостая 1 (i: Без1*Vrn-B1a* и i: Без1*Vrn-B1c*) были скрещены с изогенной линией i: Без1*Vrn-A1a*. С использованием известных аллель-специфичных праймеров для локусов *VRN-A1* и *VRN-B1* в поколении F<sub>2</sub> были получены гомозиготные растения с двумя доминантными аллелями *VRN-1*: *Vrn-A1a/Vrn-B1a* и *Vrn-A1a/Vrn-B1c*. На основе генетического расщепления гибридов F<sub>2</sub> с тестерными изогенными линиями подтверждено, что полученные линии несут два доминантных гена: *Vrn-A1* и *Vrn-B1*.

Была изучена продолжительность отдельных фаз развития у полученных линий в полевых условиях 2017 и 2018 гг. Линии с комбинацией двух аллелей выколашивались за 40-41 день, что в среднем на 2 дня меньше по сравнению с изогенной линией с аллелем *Vrn-A1a*, и достоверно меньше по сравнению с изогенными линиями i: Без1 *Vrn-B1a* (на 9-10 дней,  $p \leq 0,01$ ) и i: Без1 *Vrn-B1c* (на 5-10 дней,  $p \leq 0,05-0,01$ ) соответственно. Различия по продолжительности периода «всходы-колошение» были связаны с уменьшением продолжительности периода от всходов до формирования первого узла, который является ключевым этапом, определяющим в итоге продолжительность вегетационного периода. Так, у полученных линий данный период был короче в среднем на 2 дня по сравнению с изогенной линией с аллелем *Vrn-A1a*, а по сравнению с изогенными линиями i:Без1 *Vrn-B1a* и i:Без1 *Vrn-B1c* – на 9 и 7-8 дней соответственно ( $p \leq 0,001$ ).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-34-00146 мол\_а и бюджетного проекта 0324-2018-0018.

## AFLP-АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СОРТОВ ЯБЛОНИ (*MALUS DOMESTICA* BORKH.) НАРОДНОЙ СЕЛЕКЦИИ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

Шлявас А.В.<sup>1</sup>, Трифонова А.А.<sup>2</sup>, Дедова Л.В.<sup>2</sup>, Борис К.В.<sup>2</sup>, Кудрявцев А.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42-44, 190000;

<sup>2</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Москва, ул. Губкина, д. 3, 119333

[ann2668@yandex.ru](mailto:ann2668@yandex.ru)

В Пушкинских и Павловских лабораториях ВИР сохраняется и изучается большая коллекция образцов яблони, в которой представлено более 100 сортообразцов русской и европейской народной селекции, представляющих интерес как с точки зрения изучения генетических ресурсов, так и для селекции. Однако до настоящего времени, исследование данной коллекции с помощью молекулярно-генетических методов не проводилось.

Целью работы стало изучение генетического разнообразия 123 образцов яблони: 106 сортообразцов народной селекции и 17 современных промышленных российских и зарубежных сортов с помощью AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)-анализа. Для исследования были использованы две комбинации праймеров: *EcoRI*-ATG/*MseI*-CAT и *EcoRI*-ATG/*MseI*-CTA. Продукты амплификации разделяли в 6% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием нитратом серебра.

В результате AFLP-анализа было идентифицировано 355 фрагментов, и каждый из изученных образцов был охарактеризован уникальным AFLP-спектром. Уровень полиморфизма изученной выборки составил 89,86%, гетерозиготность ( $H_e$ ) 0,243. При этом высокий уровень разнообразия выявлен для сортов яблони народной селекции (89,20%,  $H_e=0,238$ ), а выборка современных сортов яблони оказалась более генетически однородной (74,11%,  $H_e=0,202$ ).

Коэффициент генетического сходства Дайса варьировал от 0,99 (между образцами Антоновки Обыкновенной К-74 и К-21190) до 0,63 (между образцами Пеструшка и Зимнее от Бердашкевича, Винное и Антоновка обыкновенная К-711), при среднем значении 0,77. На основе полученных данных был проведен анализ методом главных координат в программе PAST 3.16. Показана дифференциация между стародавними и современными сортами яблони и выявлены сорта народной селекции, генетически близкие к современным сортам, что, вероятно, связано с временем их создания и родословной. Стародавние сорта из Прибалтики не дифференцированы от отечественных сортов народной селекции. Анализ генетической структуры изученной выборки в программе Structure 2.3 подтвердил полученные результаты. Таким образом, впервые проанализировано генетическое разнообразие 106 сортов яблони народной селекции из коллекции НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» с помощью AFLP-анализа. Показан высокий уровень полиморфизма сортов яблони народной селекции (89,20%), а также дифференциация между изученными стародавними и современными сортами яблони.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-29-08020.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ ПРИ СОЗДАНИИ РЕКОМБИНАНТОВ ТВЁРДОЙ ПШЕНИЦЫ ПО ПРИЗНАКАМ КАЧЕСТВА КЛЕЙКОВИНЫ И АДАПТИВНОСТИ В ФГБНУ «САМАРСКИЙ НИИСХ»

Шевченко С.Н.<sup>1</sup>, Мальчиков П.Н.<sup>1</sup>, Мясникова М.Г.<sup>1</sup>, Винченцо Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Самарский НИИСХ», Россия, г. Безенчук, ул. Карла Маркса, д. 41  
*samniish@mail.ru*

<sup>2</sup>ООО «Агролига ЦСР», Россия, г. Москва, Территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, д.42, стр.1, помещение 335.

*sdolaberidze@gmail.com*

Основные проблемы для экспорта в ЕС зерна твёрдой пшеницы из России создают европейские требования к качеству клейковины. В связи с этим Самарским НИИСХ совместно с ООО «Агролига Центр Селекции Растений», в кооперации со специалистами «CREA – CI» и Университета г.Фоджиа (Италия), осуществлен проект с целью включения генетических систем, контролируемых необходимыми свойствами клейковины, в генофонд твёрдой пшеницы, адаптированный к условиям в России. С применением гаплопродрфhkjdcсерной технологии получено 1258 дигаплоидных линий – потенциальных носителей необходимых рекомбинаций генетических систем качества клейковины и адаптивности. Донорами генов качества клейковины были сорта Kofa (США), Achille, Auero (Италия), донорами генов адаптивности 6 сортов и селекционных линий Самарского НИИСХ. Для отбора линий с нужными QTLs (Quantitative Trait Loci) применялись процедуры геномной селекции. Наиболее перспективными на данный момент являются линии, полученные на основе популяции 1469D-59 (Самарский НИИСХ) / Kofa (США). Качество клейковины (по индексу глютена -IG и SDS седиментации) оценивалось на основе блока QTL, расположенного на хромосоме 1A в интервале между SSR (single sequence repeat) Barc 148 и SNP (single nucleotide polymorphism) BM140362 маркерами и на основе белковых маркеров (HMW – High Molecular Weight) в локусе Glu-b1 на хромосоме 1 В. Геномная селекция в отношении признаков адаптивности проведена на основе 100 SSR маркеров, которые представляли все аллель формы отличные от двух родителей. Кроме того, для правильной характеристики линий, 100 пар праймеров, соответствующих такому же количеству маркеров-микросателлитов (SSR), были отобраны, чтобы обеспечить хорошее покрытие двух геномов А и В твёрдой пшеницы. SSRs включают в себя общедоступный набор, имеющийся в базе данных Grain Genes: WMC (*Xwmc*), BARC (*Xbarc*), CFA и CFD (*Xcfa* и *Xcfd*) и WMS (*Xgwm*). Анализ схожести растений в популяциях F<sub>2</sub>, показал, что уже в F<sub>2</sub> возможно выделить линии с нужным блоком QTL и необходимой аллелью блока компонентов глютенина Glu-B1 от сорта Kofa, которые по другим маркерам аналогичны российскому сорту. После беккрасса и выделения линии (07), анализ генетической схожести показал, что цель была достигнута. Оценка фенотипа (в России) подтверждает эту схожесть – линия, созданная на основе геномного отбора, неотличима от российского исходного генотипа 1469D-59.

## СОЗДАНИЕ, ГЕНОТИПИРОВАНИЕ И ФЕНОТИПИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ИНТРОГРЕССИРОВАННЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ КЛЕЙКОВИНЫ В ЗЕРНЕ

Щукина Л.В.<sup>1</sup>, Симонов А.В.<sup>1</sup>, Пшеничникова Т.А.<sup>1</sup>, Шаманин В.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Проспект Лаврентьева, 10, 630090 Новосибирск, Россия; <sup>2</sup>Омский государственный аграрный университет имени Столыпина П.А., Институтская площадь, 1, 644008, Омск, Россия  
[quality@bionet.nsc.ru](mailto:quality@bionet.nsc.ru)

Создание высокоурожайных и высококачественных сортов является одной из основных задач и для современной селекции пшеницы. Содержание белка и клейковины в зерне является важным параметром, определяющим класс и технологическое назначение выращенного зерна. Генофонд дикорастущих сородичей используется для передачи генов устойчивости к болезням, а также является источником генов устойчивости к абиотическим стрессам. Вместе с тем показано, что интрогрессии могут быть источником генов повышения качества зерна [1]. Нами были выделены линии мягкой пшеницы с высоким содержанием клейковины в зерне, которые несли множественные интрогрессии от *Ae. speltooides*, *Ae. markgrafii*, *T. timopheevii* и синтетической пшеницы R-93 (AABBDD). Целью данной работы было создать коллекцию генотипов, несущих отдельные интрогрессии от сородичей мягкой пшеницы, генотипировать эти интрогрессии и показать их связи с содержанием сырой клейковины в зерне, параметрами качества зерна и структурой урожая. Хромосомы 2A, 2B и 5B от указанных видов были перенесены в генетический фон сорта Саратовская 29 (С29) с использованием моносомных линий. Сорт сохраняет высокое качество зерна при различных условиях среды. Корректность замещения хромосомы от доноров контролировалась с помощью цитологического анализа, а также микросателлитными маркерами. Введение хромосомы, несущей интрогрессию, повышало содержание клейковины зерна в полученных линиях по сравнению с С29. Увеличение наблюдалось, как в полевых условиях выращивания (на 3% и более), так и в искусственно-созданных условиях при различных режимах полива (на 5% и более). По физическим свойствам теста, замещенные линии по хромосоме 2A и 5B с интрогрессиями от *T. timopheevii* и *Ae. speltooides*, соответственно, были в пределах сорта С29, и характеризовались как «сильные» пшеницы. Те же параметры у линии с интрогрессией в хромосому 5B от Синтетика R-93 в условиях низкого агрофона были снижены. По компонентам структуры урожая линии показывали различные данные в различных условиях. Созданные линии могут служить донорами генов высокого содержания клейковины в зерне в селекции.

[1] Pshenichnikova T.A., Simonov A.V., Shchukina L.V., Morozova E.V., Chistyakova A.K., Börner A. Chapter 32. Enlargement of the genetic diversity for grain quality in bread wheat through alien introgression. // Y Ogihara et al. (eds.) Advances in wheat genetics: from genome to field. 2015, P.287-292.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке бюджетного проекта #324-2018-0259.

## ОЦЕНКА ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ГРЕЧИХИ НА СОДЕРЖАНИЕ РУТИНА

Никитина В.И.

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», Россия, г. Красноярск, пр. Мира, 90

[veranikitina@rambler.ru](mailto:veranikitina@rambler.ru)

Одной из востребованных крупяных культур является гречиха посевная, которая по биологической ценности белка выше злаковых культур и заслуживает более широкого её возделывания. Урожайность ее в Красноярском крае невысокая и варьирует в пределах 6,6-8,3 ц/га. На сортоучастках края урожайность выше и в среднем равна 14 ц/га (2018 г.).

Растениеводство заинтересованно в повышении урожайности зерна гречихи за счет внедрения новых сортов, максимально приспособленных к почвенно-климатическим условиям региона возделывания, способных противостоять действию неблагоприятных условий вегетации. Для повышения и стабилизации валовых сборов зерна гречихи, повышения эффективности ее возделывания необходимо расширить долю новых продуктивных сортов сибирской селекции. В связи с решением поставленных задач селекции встает проблема подбора исходного материала, которая особенно остро ощущается в Восточной Сибири для получения заданного сорта.

Основной зоной возделывания гречихи в Красноярском крае является лесостепная, которая характеризуется почвенно-климатическими особенностями: это возврат холодов во время посевных работ, возможность ночных заморозков в первой декаде июня, весенне - летняя засуха в первой половине вегетации, обильные дожди - во второй, опасность повреждения растений ранними осенними заморозками.

Согласно литературным данным, важную роль в приспособлении к неблагоприятным условиям внешней среды, в жизненно важных функциях растительного организма играют флавоноиды - многочисленная и распространенная группа фенольных соединений. У гречихи это рутин. Как известно, образцы с высоким содержанием его могут служить также маркерным признаком к грибным болезням растений.

Поэтому значительна роль исходного материала с высоким содержанием рутина в создании сортов гречихи устойчивых к неблагоприятным условиям вегетации.

Исследования проводили в 2016-2017 гг. в лесостепной зоне ФГУП «Курагинское» Курагинского района и ООО «Ноябрь - Агро» Минусинского района. В качестве исходного материала изучали 13 образцов гречихи: возделываемые в производстве (стандарты) - Диккуль (ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт зернобобовых и крупяных культур, г. Орел); Землячка (ГНУ Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, г. Уфа); местные селекционные гибриды – 11 образцов.

Опыты закладывались на делянках площадью 11,5 м<sup>2</sup> в 4-х кратной повторности. Норма высева - 320 всхожих семян на 1 м<sup>2</sup>, учетная площадь делянки – 10 м<sup>2</sup>.

Отбор растительных проб проводили в фазу массового цветения гречихи. Для оценки количественного содержания рутина, содержащегося в траве гречихи посевной, был использован метод спектрофотометрии [1].

Флавоноиды определяли в виде комплексов с хлоридом алюминия. Расчет проводили методом градуировочного графика, в качестве стандартного образца использовали рутин. Для определения содержания флавоноидов в растительных образцах готовили две серии опытных проб - с хлоридом алюминия и без него (растворы сравнения), т.е. применяли дифференциальный вариант спектрофотометрии, который позволяет исключить влияние на результаты анализа сопутствующих веществ.

Измерение оптической плотности проводили на фотоколориметре КФК-3 при длине волны 412 нм.

Массовую долю суммы Р - активных флавоноидов в исследуемых экстрактах в пересчете на рутин в мг/ 100 г (X) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{c \cdot F_p \cdot 10^5}{M}, \text{ где:}$$

c – количество рутина в анализируемой аликвоте экстракта, соответствующее измеренной оптической плотности по калибровочному графику, г/25 см<sup>3</sup>;

F<sub>p</sub> – фактор разбавления;

10<sup>5</sup> – коэффициент пересчета в мг/100 г;

M – масса экстракта, г.

Результаты исследований показали, что содержание рутина в анализируемых пробах изучаемых образцов гречихи варьировало с 1,70% (17 образец) до 4,60 % (29 образец). Достоверно выше показатели по содержанию рутина, по сравнению с возделываемыми в крае сортами гречихи Диккуль (2,80%) и Землячка (2,68%), показали образцы: 29 (4,60%); 10 (4,20%); 11 и 16 (3,20%); 2 (3,12%); 3 (3,00%).

Урожайность у образцов гречихи в среднем варьировала от 216,4 (24 образец) до 316,2 (15) г/м<sup>2</sup>. Селекционный и производственный интерес по продуктивности представляют все изучаемые формы: 15, 12, 16, 10, 29, 11, 20, 22, 25, 3, 2.

При создании приспособленных к изменяющимся условиям произрастания сортов гречихи для лесостепной зоны Красноярского края, рекомендуется включать в селекционный процесс исходный материал с высоким содержанием рутина в зеленой массе: 29, 10, 11, 16, 2, 3.

Изменчивость урожайности образцов гречихи зависела в большей степени от условий вегетации (87,8%), взаимодействия генотип x годы (10,0%), в меньшей степени - исследуемого генотипа (1,8%) и случайных факторов (0,4%).

Таким образом, в Красноярском крае имеется исходный материал с высоким содержанием рутина, который можно использовать для селекции сортов с комплексом хозяйственно-ценных признаков, более адаптированных к неблагоприятным условиям вегетации.

1. *Анисимова* М.М. Качественный и количественный анализ флавоноидов травы гречихи посевной / М.М. Анисимова, В.А. Куркин, В.Н. Ежков //Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - Т. 12. - № 1(8). - 2010 - С. 2011-2014.

## COMPUTER TOOLS FOR BRAIN TRANSCRIPTIONAL PROFILING IN RATS MODELS

Chadaeva I.V.<sup>1,2</sup>, Bragin A.O.<sup>1</sup>, Kovalev S.S.<sup>1</sup>, Galieva A.G.<sup>2</sup>, Markel A.L.<sup>2</sup>, Orlov Y.L.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090 Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Novosibirsk State University, 630090 Novosibirsk, Russia

<sup>3</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia

[orlov@bionet.nsc.ru](mailto:orlov@bionet.nsc.ru)

Medical genomics problems for human diseases rely on laboratory animal testing of genetically selected lines of rat and mice. It demands, in turn, bioinformatics analysis and development of specialized computer tools for gene expression analysis. We developed programs and scripts for transcriptome profiling analysis on laboratory rats. The applications include models of hypertension, stress and behavior on genetically selected rat lines developed at ICG SB RAS. RNA-seq sequencing of rat brain areas samples was done using Illumina HiSeq. The set of tools and data processing pipelines helped to find genes and gene regulation patterns related to hypertension and behavior. RNA-profiling experiments revealed the lists of differentially expressed genes in the samples as well as differentially spliced isoforms. By means of rMATs we identified several thousands alternatively spliced genes within each rat brain area studied [1].

We developed set of computer tools for transcriptome profiling on laboratory animals applied it to several tasks on rat RNA-seq. The development of essential hypertension is associated with a wide range of mechanisms. The ISIAH (Inherited Stress Induced Arterial Hypertension) rats reproduce the human stress-sensitive hypertensive disease with predominant activation of the neuroendocrine hypothalamic-pituitary-adrenal and sympathetic adrenal axes. RNA-Seq analysis of the brain stems from the hypertensive ISIAH and normotensive control WAG (Wistar Albino Glaxo) rats was performed to identify the differentially expressed genes and the main central mechanisms contributing to the hypertensive state.

Other animal model is related to aggressive behavior. Heredity has been found to significantly contribute to aggressiveness in studies of various animal species, including monkeys, rat, mice, birds, etc. Here to study genetic components of aggressive behavior we used the laboratory rat model. An unique experimental model is grey rats (*Rattus norvegicus*), which have been subjected to selection during several generations in two directions – friendly, tolerant behavior towards human (tame rats).

**Acknowledgement.** The authors are grateful to ICG SB RAS budget project (0324-2019-0040) and RFBR for the work support.

References

[1] Babenko V.N., Bragin A.O., Chadaeva I.V., Markel A.L., Orlov Y.L. Differential Alternative Splicing in Brain Regions of Rats Selected for Aggressive Behavior. Mol.biology (Mosk.) // 2017, V.51(5),P. 870-880. DOI: 10.7868/S0026898417050159

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И СЕЛЕКЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ СОДЕРЖАНИЯ И СТРУКТУРЫ АРАБИНОКСИЛАНОВ ОЗИМОЙ РЖИ

Пономарев С.Н.<sup>1</sup>, Пономарева М.Л.<sup>1</sup>, Маннапова Г.С., Гильмуллина Л.Ф., Горшкова Т.А., Козлова Л.В., Горшков О.В., Мокшина Н.Е., Назипова А.Р.

<sup>1</sup>ТамНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН, Россия, 420059, Казань, ул. Оренбургский тр., д. 48

<sup>2</sup>КИББ ФИЦ КазНЦ РАН, Россия, 420111, Казань, ул. Лобачевского д.2/31

[smponomarev@yandex.ru](mailto:smponomarev@yandex.ru)

Арабиноксиланы (АК) являются пентозосодержащими углеводными биополимерами и вторичными метаболитами клеточных стенок злаковых культур. АК ржи имеют особую технологическую значимость в сфере переработки и формировании качества конечного продукта при помоле зерна, пивоварении, хлебопечении, кормлении за счет их высокой вязкости и влагоудерживающих свойств. Дифференцирующим показателем, определяющим направление диверсификации ржаного зерна, служит качественный состав и содержание пентозанов. Создание сортов разнопланового использования — приоритетная задача селекции озимой ржи.

Нами проводятся исследования по разработке фундаментальных основ структурно-биологических и функциональных свойств пентозанов ржи, а также генотипирования и фенотипирования популяций и линий, контрастных по количеству некрахмальных полисахаридов. Расширен спектр методических подходов и характеристик, позволяющих наиболее объективно и экономично оценить селекционный материал по содержанию пентозанов. Впервые на основе комплексной оценки с помощью высокоэффективной жидкостной и анионообменной хроматографии, спектроскопии, биохимического анализа и определения экстрагируемой вязкости были выявлены и вовлечены в селекционную работу разнообразные по содержанию пентозанов генотипы озимой ржи, в том числе новые линии собственной селекции. Косвенная оценка пентозановой фракции посредством определения вязкости водного экстракта ржаного шрота позволяет начинать отбор на ранних этапах селекционного процесса. У малопентозановых линий выявлена значимая корреляция вязкости и содержания водорастворимой фракции арабиноксиланов ( $r = 0,745$ ). Наследуемость вязкости водного экстракта зернового шрота составила  $H^2 = 0,71$ , генотипический коэффициент вариации — 32,53 %, что свидетельствует о целесообразности совершенствования этого показателя селекционными методами. Показано, что арабиноксиланы в зерне низкопентозановых сортов представлены не только в меньших количествах, но и характеризуются меньшей степенью полимеризации. У высокопентозановых сортов полисахариды представлены сверхмассивными молекулами, участвующими в образовании высоковязких растворов.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке грант РФФИ: 17-29-08023 офи\_м

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ РЖИ В РОССИИ

Пономарева М.Л.<sup>1,2</sup>, Пономарев С.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ТамНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН, Россия, Казань, Оренбургский тракт, д. 48;

<sup>2</sup> Казанский (Приволжский) федеральный университет», Россия Казань, ул. Кремлевская, д. 18

[smponomarev@yandex.ru](mailto:smponomarev@yandex.ru)

Рожь (*Secale cereale* L.) - аллогамный вид, поэтому является трудным объектом для поддержания в генных банках и селекции по сравнению с пшеницей. В 94 генбанках мира хранится 22200 образцов ржи, три четверти из которых находятся в европейских коллекциях. Генетические ресурсы пшеницы насчитывают свыше 735 тыс. образцов. В Государственном реестре РФ зарегистрирован 81 сорт ржи, тогда как по пшенице допущено к использованию 314 сортов.

Научная селекция ржи имеет 150-летнюю историю. Главными современными методическими направлениями являются популяционная селекция и создание гетерозисных гибридов F<sub>1</sub>. Эффективность каждого из них зависит от уровня генетического разнообразия исходного материала, гибридных популяций, методологической базы отбора желаемых генотипов в ходе селекционного процесса. Если вопросы создания сортов устойчивых к полеганию и прорастанию зерна в колосе решаются российскими селекционерами довольно успешно, то традиционные задачи создания сортов устойчивых к стрессовым факторам и наиболее вредоносным болезням, особенно в условиях нестабильности климата, а также адресного использования получаемого зерна, остаются актуальными, и по сей день. Рассмотрены основные приоритеты и селекционные достижения российской селекции за последние 30 лет.

До недавнего времени для ржи практически отсутствовала информация о генетической архитектуре большинства селективируемых признаков и диагностических маркерах с целью применения их как многообещающего инструмента. Сейчас ситуация меняется кардинально. На протяжении последних 10 лет было проведено несколько фундаментальных молекулярно-генетических исследований (Haseneyer e.a, 2011, Bauer e.a, 2017 и др.) по секвенированию последовательности генома ржи. К настоящему моменту в геноме ржи картировано более 450 генов, контролирующих признаки или известные белки, а также свыше 5400 ДНК-маркеров для крупномасштабного генотипирования. Маркер-контролируемый отбор и геномная селекция, основанная на полногеномных данных по маркерам, служат для прогнозирования показателей получаемых гибридных форм.

Основной целью нашей селекционной деятельности является создание высокопродуктивных, экологически адаптивных и соответствующих требованиям рынка сортов ржи. Обсуждаются несколько стратегий и подходов, которые реализуются в нашей селекционной программе. Первый связан с расширением генотипической изменчивости, которая используется для повышения урожайности, второй – с достигнутыми результатами в повышении технологических качеств новых сортов.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ СОРТОВ УНИВЕРСАЛЬНОЙ РЖИ С НИЗКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ВОДОРАСТВОРИМЫХ АРАБИНОКСИЛАНОВ, ЗЕРНО КОТОРЫХ ПРИГОДНО ДЛЯ ЗЕРНОФУРАЖНОЙ И ХЛЕБОПЕКАРНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Кобылянский В.Д., Солодухина О.В.

*Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская 42,44  
osolodukhina@yandex.ru*

Использование зерна ржи на корм животным ограничено наличием в нем большого количества (1,7-3,0%) водорастворимых пентозанов (арабинозы и ксилозы) - ВАК, что в 3 раза больше, чем в зерне других зерновых культур. Арабиноксиланы в желудке животных образуют слизи, которые не гидролизуются ферментами животных и не сбраживаются дрожжами и в результате ограничивают доступ пищеварительных ферментов к питательным веществам зерна и препятствуют всасывание продуктов пищеварения. В ВИРе в 2004-2016 гг. проведены исследования по развитию нового направления в селекции зернофуражной ржи – «Создание ржи с низким содержанием водорастворимых пентозанов в зерне». В результате исследований определена роль пентозанов в «жизни» растений. Изучено наследование, изменчивость и экспрессия низкого содержания ВАК в зерне. Установлено полигенное рецессивное наследование признака. Показано сохранение низкого содержания ВАК ржи при изменении внешних условий среды. Выявлена анатомо-морфологическая обусловленность зерна и признака ВАК и определен диагностический маркер низкопентозановости. Изучение 502 образцов коллекции ржи из мирового генофонда показало, что их популяции содержат формы растений с низким (0,5-0,8%) содержанием ВАК в зерне с частотой 0,1-50%. Среди них только 5 популяций содержат 20% низкопентозановых зерновок и 3 – 40-50% таких зерновок. Выявлено уменьшение на 40-60% толщины перикарпия и алейронового слоя низкопентозановых зерновок по сравнению с высокопентозановыми. Эта причинно-следственная связь, указывающая на место локализации арабиноксиланов, позволила сформулировать стратегию и разработать технологию селекции и семеноводства низкопентозановой ржи. Совместно с селекционерами других научных учреждений созданы и в 2016-2018 гг. районированы 5 сортов зернофуражной ржи, зерно которой не образует вязких слизей в желудке животных и характеризуется высокой поедаемостью и по питательной ценности превосходит все зерновые культуры. В связи с этим снижение конверсии корма может достигать 42% по сравнению с традиционными кормами. По хлебопекарным свойствам не отмечено значительных различий муки из зерна низкопентозановых и хлебопекарных сортов. У низкопентозановых сортов по сравнению с традиционными отмечено незначительное уменьшение выхода отрубей при увеличении выхода муки на 6-18%. По хлебопекарным свойствам зерно с низким содержанием ВАК не выходит за пределы, установленные Государственными стандартами.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ОБРАЗЦОВ *AEGILOPS TAUSCHII* И *AE. UMBELLULATA* НОВЫХ ПОСТУПЛЕНИЙ КОЛЛЕКЦИИ ВИР ПО ЭФФЕКТИВНОЙ ЮВЕНИЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К БОЛЕЗНЯМ И НАЛИЧИЮ ИЗВЕСТНЫХ ГЕНОВ КОРОТКОСТЕБЕЛЬНОСТИ

Колесова М.А., Сидоров А.В. , Тырышкин Л.Г. , Белоусова М.Х. , Бекиш Л.П. , Чикида Н.Н.

ФГБНУ ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений, Санкт-Петербург, Россия, ФГБНУ ЛЕНИНГРАДСКИЙ НИИСХ "БЕЛОГОРКА», Ленинградская область, Россия

[n.chikida@vir.nw.ru](mailto:n.chikida@vir.nw.ru)

Ранее была показана крайняя узость генетического разнообразия образцов мягкой пшеницы из коллекции ВИР по эффективной ювенильной устойчивости к вредоносным грибным болезням – листовой ржавчине (возбудитель *Puccinia recondita*), септориозу (*Stagonospora nodorum*), темно-бурой листовой пятнистости (*Bipolaris sorokiniana*). Один из путей расширения этого разнообразия – интрогрессивная гибридизация с близкими родичами пшеницы, в том числе с представителями рода *Aegilops* L., среди которых особый интерес представляют образцы *Ae. tauschii* и *Ae. umbellulata*. Проведенные ранее исследования позволили выделить у данных видов образцы, высокоустойчивые к перечисленным болезням, однако эти исследования проведены достаточно давно (устойчивость может быть потеряна в результате микроэволюционных процессов в популяциях возбудителей) и на ограниченном наборе образцов. Известно, что высокорослые растения в целом сильнее поражаются септориозом и темно-бурой листовой пятнистостью, вследствие чего выделение короткостебельных форм, обладающих эффективной устойчивостью к этим болезням – актуальная задача. Целью работы являлось изучение ювенильной устойчивости образцов новых поступлений данных видов в коллекции ВИР, ранее выделенных устойчивых форм, а также их характеристика по высоте растений. Среди образцов *Ae. tauschii* выделены устойчивые ко всем 3-м болезням, среди *Ae. umbellulata* – высокоустойчивые к листовой ржавчине. Наличие известных эффективных генов резистентности к ржавчине *Lr9* и *Lr41* изучали с помощью фитопатологического теста и ДНК-маркирования. Выявлены образцы эгилопсов, защищенные данными генами резистентности. У короткостебельных форм проведено ДНК-маркирование генов *Rht2* и *Rht8*. В результате работы выделены образцы эгилопсов, перспективные для интрогрессивной гибридизации с мягкой пшеницей.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ И ИНБРИДИНГА В СЕЛЕКЦИИ ГРЕЧИХИ

Фесенко А.Н., Фесенко И.Н.

ФГБНУ ФНЦ ЗБК, 302502, Россия, г. Орел, п/о Стрелецкое

[ivanfesenko@rambler.ru](mailto:ivanfesenko@rambler.ru)

Гречиха обыкновенная *Fagopyrum esculentum* Moench является сложным объектом для селекции. Облигатное перекрестное опыление в значительной мере снижает эффективность индивидуального отбора. Использование в селекции имеющихся самофертильных гомостильных форм сдерживается свойственной гречихе сильной инбредной депрессией. Для решения этой проблемы нами была использована межвидовая гибридизация с автогамным гомостильным видом *F. homotropicum* Ohnishi. Установлено, что линии полученные на основе межвидовых гибридов, отличаются меньшей инбредной депрессией, чем линии, полученные с использованием гомостильной формы Гд1.

Изучено 1768 линий I<sub>1</sub>–I<sub>6</sub>. Установлены следующие закономерности реакции гречихи на инбридинг:

- гомостильные растения с геном гомостилии дикого вида в высокой степени склонны к самоопылению даже при обилии пыльцы других растений;
- самоопыление межвидовых гибридов сопровождается усилением мутационного процесса. Возможно, это способствует поддержанию их гетерозиготности и выживаемости при глубоком инбридинге. Выделены 7 неизвестных ранее мутаций, вызывающих нарушение развития цветка и соцветия у гречихи (tepal-like bract, determinate floret cluster и др.);
- аттрагирующая способность семян не зависит от уровня гетерозиготности их генотипа (в эволюционном плане это важнейшая преадаптация, обеспечивающая возможность перехода от перекрестного к самоопылению);
- распределение ассимилятов в растении (степень их оттока в семена) контролируется генами с аддитивным эффектом;
- инбредная депрессия в минимальной степени проявляется на стадии гетеротрофного питания организма (формирования семени), и начинает действовать на стадии автотрофного питания (с момента прорастания семян и до формирования урожая);
- при скрещивании линий с гетеростильным сортом продуктивность восстанавливается до нормального уровня и выше;
- объединение комплексов генов, обеспечивающих выживание линий в ходе длительного самоопыления, способно обеспечить проявление длительно незатухающего гетерозиса при их гибридизации.

Созданная на основе сорта Дикуль гомостильная популяция межвидовых гибридов в течение нескольких лет была проработана на снижение инбредной депрессии и затем скрещена с исходным сортом Дикуль с целью перевода на гетеростильную основу и проверки её пригодности как донора компенсационного комплекса генов в селекции гетеростильных сортов. Полученный гибрид был размножен, и в течение 3 лет проходил испытание, обеспечив достоверное превышение по урожайности над сортом Дикуль.

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА СКВАЛЕН- СИНТАЗЫ У РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ АМАРАНТА

Щербань А.Б.<sup>1</sup>, Стасюк А.И.<sup>1</sup>, Салина Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ «Институт Цитологии и Генетики СО РАН», Россия, Новосибирск, 630090, просп. акад. Лаврентьева 10

[atos@bionet.nsc.ru](mailto:atos@bionet.nsc.ru)

Амарант (род *Amaranthus*)- уникальное двудольное растение, имеющее большой потенциал в качестве зерновой, овощной и кормовой культуры. Масло из зерна амаранта обогащено ценными липидными соединениями, в частности, скваленом, содержание которого (2.2- 10%) значительно превышает содержание сквалена в оливковом и других растительных маслах [1]. Сквален имеет широкое применение в медицине: в качестве адьюванта в вакцинах, иммуномодулятора и антиоксиданта в комплексной терапии ряда заболеваний, таких как диабет, ишемическая болезнь и др., в составе косметических средств [2]. Ключевым геном биосинтеза сквалена является ген, кодирующий фермент сквален-синтазу (SQS). Последний катализирует заключительный этап синтеза- образование молекулы сквалена из двух молекул фарнезил-пирофосфата.

Целью данной работы является изучение полиморфизма SQS- гена у различных представителей рода *Amaranthus*, а также поиск тех особенностей его структуры, которые определяют вариацию концентрации сквалена в тканях амаранта. На основе референсной полной геномной последовательности вида *A. hypochondriacus*, доступной в базе данных GoGe (id40120; <https://genomevolution.org/coge/>) нами установлена нуклеотидная последовательность SQS- гена и разработаны специфические праймеры к промоторному (~ 1 тпн от АТГ-кодона) и кодирующему районам этого гена. В качестве последнего был взят район между экзонами 5 и 9, содержащий 3 важнейших функциональных домена. С помощью этих праймеров проведено выделение и анализ первичной структуры указанных районов SQS-гена из различных образцов амаранта,- представителей «зерновых» видов (*A. hypochondriacus*, *A. cruentus*, *A. caudatus*) и их дикорастущих предшественников. Проведен анализ ассоциации выявленного структурного полиморфизма SQS- гена с концентрацией сквалена в зерновой ткани амаранта.

[1]. Железнов А.В., Железнова Н.Б., Бурмакина Н.В., Юдина Р.С., Амарант: научные основы интродукции. // 2009, Академ. изд-во «Гео», Новосибирск. 235 с.

[2]. Huang Z.R., Lin Y.K., Fang J.Y., Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology // 2009, *Molecules*, V.14, P.540–544.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПАСТБИЩНЫХ ТРАВ ИЗ ТРИБЫ *AVENEAE/POEAE (POACEAE)*

Амосова А.В.<sup>1</sup>, Родионов А.В.<sup>2</sup>, Зошук С.А.<sup>1</sup>, Юркевич О.Ю.<sup>1</sup>, Саматадзе Т.Е.<sup>1</sup>,  
Лоскутов И.Г.<sup>3</sup>, Муравенко О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Россия, Москва; <sup>2</sup>ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Россия, г. Санкт-Петербург; <sup>3</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург

[atomar@mail.ru](mailto:atomar@mail.ru)

Триба Мятликовые (*Poeae*) включает в себя две ранее разделяемые трибы *Poeae* и *Aveneae* семейства Злаки (*Poaceae*) и объединяет большое количество хозяйственно-ценных культурных и дикорастущих видов злаков [1]. Считается, что в процессе эволюции значительное место занимала гибридизация между представителями разных родов этой трибы, которая сопровождалась возникновением аллополиплоидных видов [2]. Злаки, распространенные в экстремально-холодных регионах, к которым относятся представители родов *Alopecurus*, *Beckmannia* и *Deschampsia* являются удобной моделью для исследования хромосомных механизмов адаптации к экстремальным условиям произрастания, а также перспективным источником признаков (генов) для селекции и биотехнологии [3]. Однако, современных молекулярно-цитогенетических исследований большинства представителей этих родов не проводилось, а сведения об их кариотипах ограничиваются данными о хромосомных числах и описанием общей морфологии хромосом при монохромном окрашивании. В данной работе впервые проведено сравнительное молекулярно-цитогенетическое исследование хозяйственно-ценных видов злаков из родственных родов трибы *Aveneae/Poeae* (*Alopecurus aequalis* Sobol., *Alopecurus arundinaceus* Poir., *Beckmannia syzigachne* (Steud.) Fernald, *Deschampsia cespitosa* (L.) P. Beauv. и *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin. (= *Avenella flexuosa* (L.) Drejer) методами DAPI-бэндинга, FISH с пробамми 45S рДНК, 5S рДНК и микросателлитной последовательностью (GTT)<sub>9</sub>, а также быстрой GISH с геномной ДНК *Deschampsia sukatschewii* (Popl.) Roshev. и *D. flexuosa*. Изучены структура их кариотипов, пloidный статус, особенности и общие черты их геномов. Сравнительный анализ изученных видов и других филогенетически близких представителей трибы (родов *Avena* и *Holcus*) выявил морфологическое сходство и идентичную локализацию хромосомных маркеров для некоторых хромосом. В частности, выявлено сходство хромосомы 1 с множественными сайтами рДНК у *A. arundinaceus* с аналогичной хромосомой из А-генома некоторых полиплоидных видов рода *Avena*, что указывает на возможное наличие общего предкового вида, а также на полиплоидный статус изученных видов. Полученные уникальные сведения о кариотипах вышеперечисленных хозяйственно-ценных видов необходимы для понимания общих закономерностей структурной, молекулярной и хромосомной изменчивости и путей дивергенции их геномов, происходящей в процессе эволюции.

[1]. Soreng R.J., Peterson P.M., Romaschenko K., Davidse G., Zuloaga F.O., Judziewicz E.J., Filgueiras T.S., Davis J.I., Morrone O. A worldwide phylogenetic classification of the *Poaceae* (*Gramineae*). // 2015, JSE, V.53, P.117-137.

[2]. Rodionov A.V., Kim E.S., Punina E. O., Machs E.M., Tyupa N.B., Nosov N.N. Evolution of chromosome numbers in the tribes *Aveneae* and *Poeae* inferred from comparative analysis of the internal transcribed spacers ITS1 and ITS2 of nuclear 45S rRNA genes. // 2007, Botanicheskii Zhurnal. V.92, 57-71.

[3]. Amosova A.V., Bolsheva N.L, Zoshchuk S.A., Twardovska M.O., Yurkevich O.Y., Andreev I.O., Samatadze T.E., Badaeva E.D., Viktor A. Kunakh V.A., Muravenko O.V. Comparative molecular cytogenetic characterization of seven *Deschampsia* (*Poaceae*) species. // 2017, PLoS ONE, 12(4), e0175760.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при поддержке РФФИ проект 17-00-00340 (К) КОМФИ (17-00-00336, 17-00-00337, 17-00-00338) и в рамках Программы фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013 - 2020 годы (тема № 01201363824).

## ОЦЕНКА ПЛАСТИЧНОСТИ НОВЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Джаббаров И.Ш.

Самаркандский государственный университет, Самарканд, Узбекистан

[djabborov59@mail.ru](mailto:djabborov59@mail.ru)

Яровая мягкая пшеница – важнейшая продовольственная и стратегическая культура Узбекистана. Она является важной составной частью структуры посевных площадей и возделывается во всех зерносеющих регионах республики. При селекции яровой мягкой пшеницы важное значение приобретает постоянный поиск резервов повышения продуктивности и качество семян [4]. Поэтому главным направлением селекции следует считать создание сортов, сочетающих высокий потенциал продуктивности и качества урожая с устойчивостью к действию абиотических и биотических стрессов. В этой связи актуальным направлением проблемы дальнейшего увеличения урожайности и генетической устойчивости культуры к неблагоприятным факторам внешней среды является изучение экологической пластичности возделываемых сортов [1,3].

**Целью** исследования является оценка экологической пластичности линий яровой мягкой пшеницы и выявление наиболее адаптивных генотипов с высокой стабильностью урожайности.

**Материал и методы исследования.** Объектом исследования явились 4 перспективные линии яровой мягкой пшеницы, которые полученных методом внутривидовой сложной гибридизации. Посев линии производился в оптимальные сроки для зоны (20-25 октября) на экспериментальном участке расположенном в предгорной зоне Самаркандского района с.Агалык (h=980 м над уровнем моря; с.ш. 39,25,652 в.д. 70,01,070). Статистическую обработку полученных данных проводили по Б.А. Доспехову [2]. и с помощью программных пакетов MicrosoftExcel и R.

**Полученные результаты и их обсуждение.** Результаты проведенных исследований показали, что урожайность у изученных линий колеблется от 2.8 до 4.1 т/га в 2000 г., от 4.2 до 5.3 т/га в 2001 г., от 1.6 до 2.8 т/га в 2002 г., от 3.5 до 4.2 т/га в 2003 г., от 2.1 до 3.1 т/га в 2004 г., от 2.7 до 4.6 т/га в 2005 г., от 2.1 до 4.7 т/га в 2006 г., от 2.4 до 3.6 т/га в 2007 г., от 2.4 до 3.2 т/га в 2008 г., от 3.6 до 4.2 т/га в 2009 г. и от 3.2 до 4.9 т/га в 2010 г. В годы проведения исследований наибольший размах варьирования урожайности наблюдался в 2002 и 2008 гг. при минимальной средней урожайности соответственно 24.30 и 23.13% при 2.1 т/га.

Менее всего варьировала урожайность по линиям в 2001 и 2003 гг. при достаточно высоком абсолютном ее варьировании: соответственно 8.02-9.54% при 4.9-4.1 т/га. Наиболее высокие урожаи получены в благоприятные по увлажнению 2001, 2003 и 2010 гг., а наименьшие в 2002-2004 гг. в неблагоприятные годы для роста и развития растений. Наиболее урожайными за годы проведения исследований были линии 8/2 и 9/2, давшие до 4 т/га. Однако размах урожайности по годам у линий 8/2 составил 48.45%, а урожайность колебалась от 2.1 до 5.2 т/га. При этом у линий 9/2 размах варьирования урожайности по годам составил 35.24%, а урожайность колебалась от 2.7 до 5.5 т/га. В результате проведенных исследований установлено, что по стабилизации урожайности наиболее пластичной является линия 9/2. За 10 лет конкурсного испытания средняя урожайность этой линии составила 4.9 т/га, что выше на 0.61 т/га линии 6/1. Высокая стабильность линии 9/2 в разных экологических условиях объясняется генотипическим составом популяции, состоящим из различных биотипов, что обеспечивает более стабильный урожай в изменяющихся условиях факторов внешней среды. В изученном наборе линий мягкой яровой пшеницы наибольшей реакцией на экологические условия выращивания выделилась линия 9/2 ( $\sigma_1 = 1.3$ ). В благоприятном для роста и развития 2003 г. линия 9/2 показала максимальный по урожайности результат, тогда как в неблагоприятном 2002 г. этот показатель резко снизился. Линии 6/1 и 8/2,

судя по коэффициентам регрессии ( $\sigma=1$ ), обладают высокой экологической пластичностью, размах варьирования урожайности по годам у них примерно на одном уровне – 30.24-35.32%. Линия 6/4 относится к категории линий с низкой экологической пластичностью. У этой линии наименьший размах колебаний урожайности по годам-30%. В неблагоприятные условия вегетации линия 6/4 дала наименьшую из всех линий урожайность – 4.8 т/га, а в неблагоприятный год данный показатель составил 1.9 т/га.

По показателям экологической пластичности между линиями наблюдали существенные различия. Для лучшего понимания приспособительных возможностей изученных линий пшеницы целесообразно было оценить их по коэффициенту линейной регрессии выраженной в форме индекса условий среды ( $I_1$ ).

Результаты анализа связи урожайности с экологическими условиями года вегетации показали, что к числу наиболее высокопластичных относятся линии 6/1 и 9/2, которые отличаются стабильностью урожая по годам.

#### **Список литературы**

1. Шелепов В.В., Чебаков Н.П., Вергунов В. А., Кочморский В.С. Пшеница: История, морфология, биология, селекция. – Мироновка: Мироновский институт пшеницы им. В.Н. Ремесло. – 2009. – С. 573.
2. Филлипс С., Нортон Р. Производство зерна пшеницы и применение минеральных удобрений в мире // Питание растений. – 2012. – № 4.- С. 2.
3. Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Генетические основы селекции растений – Минск: Белорус: изд-во наука, 2008. – С. 551.
4. Леонова Е.П., Мельниченко Т.В. Оценка комбинационная способность сортообразцов моркови в условиях Украины // Наука и мир. – 2014. – № 4 (8). – С. 147.

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ПРИЗНАКОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ АДАПТАЦИЮ И УСТОЙЧИВОСТЬ К СТРЕССАМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИ МАРКИРОВАННЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Ефремова Т.Т., Чуманова Е.В.

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск,

пр. акад. Лаврентьева, 10;

[efremova@bionet.nsc.ru](mailto:efremova@bionet.nsc.ru)

Генетический анализ признаков адаптивности и стрессоустойчивости проводится нами с использованием специально создаваемых линий мягкой пшеницы, маркированных генам перенесенными от различных видов злаков и сортов пшеницы. Одним из примеров адаптации пшеницы к условиям среды является тип развития (яровой, озимый, факультативный) и продолжительность вегетационного периода. Основные различия в скороспелости пшеницы связаны с генами *VRN*. Гены *VRN* тесно сцеплены с генами холодо-морозостойкости *Fr* (cold/freezing tolerance). Гены *Vrn-A1/ Fr-A1*, *Vrn-B1/ Fr-B1* и *Vrn-D1/Fr-D1* локализованы в длинном плече хромосом 5A, 5B и 5D соответственно. У ржи (*Secale cereale* L.) ген *Vrn-R1*, определяющий тип развития локализован в хромосоме 5R.

Нами созданы модельные линии мягкой пшеницы с разными аллелями генов *VRN-1* и *Vrn-4*, и впервые с их помощью проведены экспериментальные исследования по изучению роли полиморфизма аллелей генов *VRN-1* в регуляции продолжительности вегетационного периода и длительности прохождения отдельных фаз развития. Показано, что изогенные линии по озимому сорту Безостая 1 с разными аллелями *Vrn-B1c* и *Vrn-B1a* зимуют в условиях лесостепной зоны Приобья Новосибирской области, что позволяет отнести их к пшеницам- двуручкам. На примере пшенично-ржаных 5R(5A) замещенных линий впервые экспериментально установлено влияние хромосомы 5R ржи на продолжительность вегетационного периода и зимостойкость. Получены пшенично-чужеродные линии с множественными замещениями/транслокациями с целью комбинирования в одном генотипе нескольких чужеродных генов, контролирующих адаптацию, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам и морфобиологические признаки. С целью комбинирования нескольких чужеродных генов, локализованных в различных хромосомах генома, контролирующих устойчивость к болезням (*Lr26/Pm8/Sr31 + Lr19/Sr25 + Lr6Ai/Sr6Ai/Pm6Ai*), голубую окраску зерна (*Bal*), тип развития и продолжительность вегетационного периода (*vrn-R1*) созданы несколько реципрокных гибридов и отобраны генотипы с заданной комбинацией генов. Исследованы особенности формирования изучаемых признаков в зависимости от комбинаций чужеродных хромосом или их сегментов. Получены линии сорта Саратовская 29 с комбинацией генов *Pp* и *Bal*, определяющих пурпурную окраску перикарпа голубую окраску алейронового слоя зерна соответственно. Они получены на основе изогенных линий, созданных ранее в нашей лаборатории.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-04-00721 и бюджетного проекта 0324-2018-0018.

## ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТНОЙ ДИНАМИКИ ВНУТРИПОПУЛЯЦИОННОЙ АДДИТИВНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ВЫСОТЫ СТВОЛА НА ВЫБОР СЦЕНАРИЯ РАЗВИТИЯ СЕМЕНОВОДСТВА У СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Камалов Р.М.

*ВНИИЛГИСБиотех, Россия, Воронеж, ул. Ломоносова, 105*

*kamalov.r.m12@gmail.com*

Текущий сценарий развития семеноводства сосны обыкновенной в Российской Федерации почти полностью повторяет типичный сценарий семеноводства в Северной Европе, однако в силу различных причин он практически не выполняется. Так в Швеции доля сеянцев выращенных из семян с лесосеменных плантаций 1-го поколения достигает 80% от общего объема. В России их доля колеблется по регионам от нуля до 5%. Почти полное отсутствие реализации текущего сценария семеноводства имеет и свои преимущества, поскольку позволяет сравнительно легко переориентироваться на другие пути развития семеноводства. Наиболее важным и дискуссионным из оснований, на которых базируется лесное семеноводство Северной Европы, является оценка ожидаемого генетически обусловленного прироста продуктивности в 10-15% на каждый цикл отбора в популяциях. Эта оценка сделана в основном с использованием генетико-селекционных параметров молодых испытательных культур, без учета их возрастной динамики.

С целью оценки эффективности различных сценариев семеноводства была изучена возрастная динамика внутривидовой аддитивной генетической изменчивости высоты ствола, как важнейшего параметра определяющего эффект селекции на общую продуктивность. Исследования отдельных объектов объединялись в серии по возрасту культур. Всего в метаанализ включены данные испытания 630 семенных и вегетативных потомств плюсовых и случайно отобранных деревьев. Выборка материнских деревьев из насаждений одного лесничества рассматривалась как выборка из отдельной популяции. Выявлено закономерное снижение с возрастом обобщенных оценок коэффициента генетической вариации: возраст культур 9-11 лет – 8,5%; 15-28 лет – 6,4%; 38-42 лет – 2,6%; 65 лет – 2,8%. При прочих равных условиях уменьшение к возрасту спелости насаждения генетической вариации в 3 раза снижает оценку величины эффекта селекции в 9 раз.

Использование при создании ЛСП только плюсовых деревьев, как это предписывают нормативные документы, несет ряд негативных последствий: обедняется генофонд лесобразующих видов, происходит замена местных популяций унифицированным однородным репродуктивным материалам. При корректной оценке эффекта ЛСП 1-го и 2-го порядка выбор «шведского» сценария развития семеноводства сосны обыкновенной становится не очевидным и он может быть заменен поддерживающей селекцией, ориентированной на поддержку имеющейся продуктивности лесов и сохранение естественной популяционной структуры насаждений сосны.

## ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В КОНТРОЛЬ СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ШТАММОВ *SINORHIZOBIUM MELILOTI*.

Курчак О.Н., Онищук О.П., Чижевская Е.П., Симаров Б.В.

ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, Санкт-Петербург – Пушкин, ш.Подбельского, 3.

Повышение продуктивности бобовых растений за счет увеличения их биомассы достигается путем инокуляции активными штаммами клубеньковых бактерий. Выяснение механизмов генетического контроля эффективности симбиотического взаимодействия представляет как научный, так и практический интерес. Использование транспозонового мутагенеза и последующее секвенирование участков генома клубеньковых бактерий, прилегающих к транспозону, позволило выявить ряд генов, вовлеченных в контроль симбиотической эффективности у *Sinorhizobium meliloti* (микросимбионтов люцерны, донника и пажитника) [1]. В настоящей работе проведен молекулярно-генетический анализ высокоэффективных Tn5-мутантов, которые превосходили родительский штамм СХМ1-188 по способности повышать массу инокулированных ими растений люцерны посевной сорта Вега на 24-27%. С использованием метода «инвертированной» ПЦР у данных мутантов инсерции транспозона были локализованы в различных репликациях штамма СХМ1-188 *S.meliloti*. На хромосоме мутанта Т802 транспозон встроился в ген, кодирующий короткоцепочечную ацил-СоА-трансферазу, катализирующую перенос ацетильной группы от ацетил-кофермента А к остатку фосфорной кислоты. У мутанта Т749 инсерцией транспозона инактивирован хромосомный ген, который гомологичен гену *hipO1* (SMc00829) штамма 1021 и кодирует фермент гиппурат гидролазу и участвует в металло-зависимом расщеплении пептидной связи, но не обязательно в полипептидных субстратах. На Sym-плазмиде мутанта Т813, транспозон встроился в ген, кодирующий dTDP-4-дегидро-рамнозо-редуктазу, который является одним из генов биосинтеза нуклеотид-активированной L-рамнозы - гексозы, наиболее часто обнаруженной в составе внеклеточных полисахаридов. И на мегаплазмиде 2 мутанта Т796 – в ген дигидрокси-ацетон киназу, вовлеченный в регуляцию источников энергии АТФ в клетке. Таким образом, в данной работе выявлены гены *S.meliloti*, инактивация которых не затрагивает жизненно важные биохимические пути, но позволяет высвобождать энергию для повышения эффективности азотфиксации с люцерной.

[1]. Sharypova LA et al.. Genetic improvement of Rhizobium strains. // 1992, The Nitrogen Fixation and its Research in China/ Ed.G.F.Hong.Berlin, P.266-285.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-04-02011.

## ИЗУЧЕНИЕ ОРГАНИЗАЦИИ ПРОФАЗНОГО ЯДРА У ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ (ABDR, 4X=28) С РАЗЛИЧНЫМ ПАТТЕРНОМ МЕЙОТИЧЕСКОГО ДЕЛЕНИЯ

Логинова Д.Б.<sup>1</sup>, Силкова О.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Российская Федерация, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева 10.  
[loginova@bionet.nsc.ru](mailto:loginova@bionet.nsc.ru)

У межродовых гибридов пшеницы отсутствует спаривание гомологичных хромосом, вследствие отсутствия гомологов, а благодаря активности *Ph*-генов подавляется спаривание негомологичных хромосом. Однако оба этих факта не приводят к остановке деления в силу отсутствия строгого пахитенного чекпоинта, что дает возможность изучать мейоз у полигаплоидных гибридов. Целью настоящего исследования было понять структурную и функциональную организацию ядер на стадии профазы I у пшенично-ржаных гибридов с различным генетическим фоном [1]. Сочетание иммуноокрашивания с антителами против ASY1, CENH3 с конфокальной микроскопией позволяет изучать динамику и организацию центромер. В контрольных растениях линий 1Rv(1A), 2R(2D), в лептотене в ядрах было обнаружено от 6 до 16 сигналов CENH3, в зиготене – 21 сигнал, начиная со стадии диплотена, в ядрах присутствовало 42 сигнала. Динамика и структура центромерных районов у гибридов 1Rv(1A)xR и 2R(2D)xR отличалась от нормы. На стадии лептотена количество сигналов CENH3 варьировало от 5 до 11, во время зиготены и в пахитене количество сигналов увеличивалось – от 23 до 27. Некоторые из сигналов CENH3 отличались по размеру (больше) и имели неправильную форму (в форме звезды), возможно, из-за комбинации нескольких центромер. Во время зиготены - пахитены наблюдалась различная степень конденсации центромер между отдельными хромосомами. В части мейоцитов компактизация CENH3 различалась значительно. Сочетание иммуноокрашивания с флуоресцентной *in situ* гибридизацией с зондами, комплементарными центромерным (*bilby*) и субтеломерным повторам (*pSc200*) ржи позволили более точно проследить динамику и организацию хромосом ржи в ядрах гибридов. В некоторых мейоцитах на стадии зиготены субтеломерные повторы формировали 2 плотных кластера вместо одного, что согласуется с данными, полученными ранее с использованием FISH с теломерными повторами TTTAGGG (неопубликованные данные).

[1] Silkova O.G., and Loginova D.B. Sister chromatid separation and monopolar spindle organization in the first meiosis as two mechanisms of unreduced gametes formation in wheat-rye hybrids // 2016, Plant Reprod., V.29(1-2), P.199-213.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 17-04-01014

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГИБРИДНЫХ СЕЯНЦЕВ ЯБЛОНИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ИММУННЫХ К ПАРШЕ (ГЕН *Rvi6*) ГЕНОТИПОВ С КОЛОННОВИДНЫМ ГАБИТУСОМ РОСТА (ГЕН *Co*)

Акимов М.Ю., Лыжин А.С., Савельева Н.Н.

ФГБНУ «ФНЦ имени И.В. Мичурина», Россия, г. Мичуринск, ул. Мичурина, 30

[Ranenburzhetc@yandex.ru](mailto:Ranenburzhetc@yandex.ru)

Важным направлением селекции яблони является совмещение в одном генотипе комплекса хозяйственно-ценных признаков, например моногенной устойчивости к парше и колонновидного габитуса роста. К настоящему времени идентифицировано 20 неаллельных генов, контролирующих устойчивость яблони к различным расам парши, из которых в селекционной практике наиболее широкое распространение получил ген *Rvi6* (*Vf*). Ген *Rvi6* локализован в группе сцепления 1 в локусе гомологичных рецептор-подобных генов *HcrVf1*, *HcrVf2*, *HcrVf3*, *HcrVf4*. Для идентификации гена *Rvi6* устойчивости к парше использовали внутригенный маркер VfC и кодоминантный маркер AL07-SCAR. Колонновидный габитус роста у яблони контролируется доминантным геном *Co*, картированным в группе сцепления 10. Согласно современным исследованиям признак «колонновидность» яблони обусловлен спонтанной мутацией в окологенной области *Co* локуса (инсерция, размером 1956 п.н.). Для выявления в геноплазме яблони гена *Co* использовали маркеры 29f1-JWI1r, 29f3-30r, фланкирующие инсерцию в окологенной области *Co* локуса. Оценка наследования в гибридном потомстве яблони генов *Rvi6* и *Co* на основе ДНК-анализа позволила идентифицировать генотипы, сочетающие колонновидный габитус кроны с устойчивостью к парше по гену *Rvi6*. В комбинации скрещивания Валюта × Успенское 83,3% сеянцев унаследовало хотя бы один локус из двух, рецессивный гомозиготный генотип по анализируемым генам (*rvi6rvi6+coco*) имеет 16,7% сеянцев. Иммунитет к парше и колонновидный габитус роста сочетает 40,7% гибридных форм, из которых 77,3% имеет генотип *Rvi6rvi6+Coco*, а 22,7% (сеянцы №3-10-9, 3-10-12, 3-10-19, 3-10-26, 3-10-36) – генотип *Rvi6Rvi6+Coco*. В гибридной комбинации Валюта × Белорусское сладкое доминантный аллель гена *Co* идентифицирован у 50,1% сеянцев с геном *Rvi6*, что составляет 33,3% от общего количества проанализированных генотипов. Сеянцы №7-12-32, 7-12-33 (3,9%) совмещают ген *Rvi6* в доминантном гомозиготном состоянии с доминантным аллелем гена *Co* (генотип *Rvi6Rvi6+Coco*). Рецессивный гомозиготный генотип по обоим генам имеет 17,6% сеянцев. В комбинации скрещивания Валюта × Академик Казаков 40,9% гибридных сеянцев совмещают иммунитет к парше по гену *Rvi6* с колонновидным габитусом роста, из которых 77,8% сеянцев имеет генотип *Rvi6rvi6+Coco*, а 22,2% (сеянцы №6-12-23, 6-12-24) – генотип *Rvi6Rvi6+Coco*. Таким образом, ДНК-маркеры позволяют на молекулярном уровне выявить перспективные генотипы для дальнейшего использования в маркер-опосредованной селекции.

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СУБЪЕДИНИЦ ГЛЮТЕНИНА *T. DICOCOIDES*

Орловская О.А., Яцевич К.К., Вакула С.И., Хотылева Л.В., Кильчевский А.В.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27

[O.Orlovskaya@igc.by](mailto:O.Orlovskaya@igc.by)

Генетическое разнообразие вариантов запасных белков у сородичей *T. aestivum* L. несравненно богаче, чем у существующих сортов, в связи с чем, виды рода *Triticum* привлекаются для улучшения пшеницы по хлебопекарным свойствам зерна. Нами проведена идентификация состава высокомолекулярных субъединиц глютенина (HMW-GS) у образца *T. dicoccoides* K5199 (AABB, 2n=28) из коллекции ВИРа и изучена их молекулярная структура.

Анализ спектров SDS-электрофореза показал, что исследованный нами образец *T. dicoccoides* K5199 имел 4 HMW-GS, из которых только субъединица Bx7 встречается у сортов мягкой пшеницы. Остальные субъединицы отличались по подвижности от характерных для *T. aestivum* субъединиц глютенина. В результате проведения секвенирования нами определены нуклеотидные последовательности генов *1AxTd* и *1ByTd* образца *T. dicoccoides* K5199, которые зарегистрированы в базе данных GenBank (коды доступа MH475136 - *1AxTd*, MG897125 - *1ByTd*). Длина кодирующей последовательности *1AxTd* составила 2490 п.н., а наибольшая идентичность нуклеотидной последовательности данного гена выявлена с последовательностью гена *1Ax1 T. aestivum* (99,7%). Различия между ними составили 7 SNPs. При сравнении кодирующей последовательности гена *1ByTd* (2154 п.н.) с наиболее сходной последовательностью гена *1By15 T. dicoccoides* (98,5%) выявлены 32 SNPs.

Полученные ДНК-последовательности транслированы в гипотетические последовательности аминокислот, которые имели типичную структуру HMW-GS x- и y-типа соответственно: сигнальный пептид состоял из 21 аминокислотного остатка (а.о.); N – концевой домен (86 и 104 а.о.); центральный домен (681 и 550 а.о.); C - концевой домен (42 а.о.). Предсказанная вторичная структура субъединиц *1AxTd* и *1ByTd* образца *T. dicoccoides* K5199 существенно не отличалась от структуры *1Ax* и *1By* HMW-GS, вклад в хлебопекарное качество которых оценивается высоко. В частности распределение структурных мотивов ( $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet,  $\beta$ -turns) в концевых доменах было идентичным для всех изученных субъединиц. Можно отметить незначительные различия по количеству  $\alpha$ -helix в повторяющемся домене у проанализированных HMW-GS.

Сравнение аминокислотной последовательности и вторичной структуры белка субъединиц *1AxTd* и *1ByTd* с известными субъединицами *1Ax* и *1By*, оказывающими положительный эффект на эластичные свойства клейковины пшеницы, не показало существенных различий между ними. Это позволяет предположить, что выявленные HMW-GS *T. dicoccoides* K5199 также будут определять высокие хлебопекарные качества.

## СЕЛЕКЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ НА БОЛЬШОЙ И МАЛЫЙ ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ ВЕС МОЗГА: ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОВЕДЕНИЯ.

Перепелкина О.В., Огиенко Н.А., Лильп И.Г., Полетаева И.И.

*МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д.1 стр.12.*

*[o\\_perepel73@mail.ru](mailto:o_perepel73@mail.ru)*

В лаборатории физиологии и генетики поведения МГУ им. М.В. Ломоносова было проведено три селекционных эксперимента по выведению аутбредных линий лабораторных мышей с большим (БМ) и малым (ММ) относительным весом мозга. Третий селекционный эксперимент был начат в 1999 году и продолжается по настоящее время.

Отбор производителей проводили следующим образом. В генетически гетерогенной популяции, а затем по ходу селекции в каждой линии в возрасте 60 - 70 дней у половины животных каждого помета каждой из линий определяли вес мозга и вес тела и строили линию регрессии «вес тела - вес мозга». Если показатели относительного веса мозга для данного помета попадали за пределы доверительного интервала (выше линии регрессии для линии БМ и ниже - для линии ММ), то оставшиеся мыши этого помета шли на скрещивание для получения следующего поколения селекции.

Во всех трех селекционных экспериментах мы получили сходные данные. Вес мозга у мышей селектированных линий различался в среднем на 16 %. Также были обнаружены устойчивые различия в поведении: мыши линии БМ лучше решали когнитивные тесты (тест на способность к экстраполяции направления движения пищевого стимула и тест «поиск входы в укрытие»), лучше обучались инструментальному навыку и у них была выше исследовательская активность, а для мышей линии ММ характерна более высокая тревожность.

В третьем селекционном эксперименте, начиная с 25 поколения селекции, отбор по относительному весу мозга прекратили. И по настоящее время (39 поколение селекции), разведение линий ведется в режиме случайного скрещивания. Несмотря на отсутствие отбора межлинейные различия по весу мозга остаются высоко достоверными. На достоверном уровне сохраняются и межлинейные различия в поведении. Мыши БМ лучше решают когнитивные тесты, у них ниже уровень тревожности и ниже уровень неophobia. Это позволяет утверждать, что эффект селекции на большой и малый относительный вес мозга оказался стабильным.

При выполнении работы авторы руководствовались правилами Декларации ЕС 2010 (2010/63/EU). Работа частично поддержана РФФИ, грант 16-04-01169А, темой «Нейробиологические основы поведения животных Госпрограмма N NIOKTR AAAA-A16-116021660055-1»

## ПОЛУЧЕНИЕ ГАПЛОИДОВ НА ОСНОВЕ ГЕНА САМОНЕСОВМЕСТИМОСТИ У ЯБЛОНИ И ГРУШИ

Попов Г.Д.

ФНЦ им И.В.Мичурина, Россия, г.Мичуринск, Тамбовская обл., ул.ЦГЛ-10,  
[dmygen@bk.ru](mailto:dmygen@bk.ru)

При гибридизации сибсов груши из комбинации скрещивания Нежность x Вильямс красный по диаллельной схеме выявляется реципрокный эффект со значительным разрывом достигающим 100% в получении семян в зависимости от качества использования родительской формы (отцовского, материнского). Растения груши, несущие признаки и мужского и женского пола, вступают во взаимоотношения как однополые. Незначительное количество завязавшихся семян вызывается аномальными процессами, происходящими после опыления. Несовместимость проявляется не только при самоопылении, но и при перекрестном переопылении форм с разными генотипами. Оплодотворения в результате самоопыления не происходит ввиду образования пыльцевых зерен на основе данного генотипа. Признак несовместимости проявился при инбредном скрещивании в качественной форме; на двух сеянцах не образовалось ни одного плода при искусственном самоопылении. Использование пыльцы одного сеянца в качестве опылителя для остальных сибсов по принципу топкросса показало неодинаковое его влияние на завязываемость семян у остальных сеянцев (материнских растений). Пыльца близкородственных растений является хорошим стимулятором для получения апомиктических организмов с гаплоидным набором хромосом, в то время как сама комбинация скрещивания должна относиться к самонесовместимым. В одной комбинации скрещивания получены 4 растения которые являются гаплоидными; до 30 летнего возраста ни одно растение не цвело. Есть предположение, что при этом ломается генеративный аппарат. Согласно данных Сурикова И.М. [1] несовместимость у груши выражена более отчетливо, чем у яблони.

У яблони выделяются две формы реципрокного эффекта в насыщающих скрещиваниях сеянцев Богатырь X Гала материнского сорта Богатырь с дочерними формами (100% реципрокный эффект и реципрокный эффект практически отсутствовал). При этом комбинации скрещивания распределились пополам (или 1:1). В тех комбинациях, где реципрокный эффект практически отсутствовал, количество завязавшихся семян было незначительным.

Суриков И.М. Генетика самонесовместимости у цветковых растений // 1965, Генетика. №2. С.158-169.

## ГЕНЫ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ, ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫЕ В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЛЬНА И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ

Пороховинова Е.А., Павлов А.В., Кутузова С.Н., Брач Н.Б.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская 42-44

[e.porohovinova@vir.nw.ru](mailto:e.porohovinova@vir.nw.ru)

Генетическая коллекция льна ВИР (ГК) содержит 523 линии 6 поколения инцухта. С помощью генетического анализа у 83 линий изучено наследование 41 гена морфологических признаков (МП), 8 из которых имеют множественный аллелизм. Из 30 известных генов не изучено только 4. Впервые описано 6: *oral* (светло-оранжевые пыльники и крапчатость семян), *SPS1* (ингибитор крапчатости семян *oraloral*), *svf1* (звездчатые фиолетовые цветки генотипа *sfc2sfc2*), *FP1* (продольная складчатость лепестков), *sgl1* (зеленый гипокотиль), *dw1* (карликовость).

Предложена схема взаимодействия генов, контролирующих МП льна. Она состоит из 6 блоков и 5 отдельных генов.

1й блок – основных генов [*s1*(*star flower*)>*sfbs1*(*star flower brown seed*)>*wf1*(*white flower*)>*pf1*(*pink flower*)>*f*<sup>e</sup>(*dilution blue flower, spot seeds*)>*pbcl*(*pale blue crimped*)>*pbcl3*] и ослабителей окраски цветка [>*dlb1*(*dilution blue*)>*dlb3*>*oral1*]. Все кроме 4х располагаются линейно по отношению друг к другу. Гены *s1*, *wf1*, *pf1* и *f*<sup>e</sup> меняют свое положение в иерархии формирования фенотипа в зависимости от признака. Так, по окраске цветка *s1*>*wf1*>*pf1*>*f*<sup>e</sup>, его деформации *pf1*=*wf1*>*s1*>*f*<sup>e</sup>, окраске семян *pf1*>*s1*>*f*<sup>e</sup>>*wf1*.

2й блок – действует в семенах [*YSED1*(*Yellow seed*)>*pf1*>*pf-d*>*pf1*>*pf-ad*>*pf-ad*+*yspf1*(*yellow seed after pink flower*)>*s1*]>*used2*>*rs1*(*reduced colour of seed*)>[*f*<sup>e</sup>>*oral1*]>*SPF1*]. Показано, что органоспецифичные гены иногда ингибируют плейотропные. Так ген *YSED1* подавляет пигментацию семян, вызванную любым из других генов, а *used2* и *rs1* – *f*<sup>e</sup> и *oral1*. Ген *yspf1* работает только у гомозигот по *pf-ad*.

3й блок – гены окраски пыльников (*oral1*>*ora2*>*ora3*). Они, за исключением *oral1*, работают в конце пути формирования окраски цветка и кумулятивно взаимодействуют с другими.

4й блок – восстановители фертильности при ЦМС и их альтернативные аллели (*rfo*, *rft*), как правило, меняют окраску тычиночных нитей и пыльников, а аллели *rft* делают трубчатыми цветки.

5й блок – усиливает окраску венчика (*sfc3-2*>*sfc7*>*sfc1*>*sfc2*>*sfc2*+*svf1*) и контролирует конец биосинтеза пигментов лепестков. Его гены либо полностью ингибируются генами из первого блока, либо кумулятивно взаимодействуют с ними.

6й блок генов (*zeb1,2*>*ygp1*=*ygp2*) независим от всех других генов, так как контролирует биосинтез хлорофиллов.

Гены *cs1* (*curly stem*) и *dw1* меняющие форму стебля, *CSB1*, *sgl1*, *FP1* действуют независимо от других.

ГК содержит линии с большинством известных мутаций генов МП. Многие мутации несут несколько линий независимого происхождения, что поможет насыщению «Менделевскими» генами молекулярно-генетических карт.

## КАРИОГЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОРТОВ И МУТАНТНЫХ ФОРМ *CALENDULA OFFICINALIS* L.

Саматадзе Т.Е.<sup>1</sup>, Юркевич О.Ю.<sup>1</sup>, Хазиева Ф.М.<sup>2</sup>, Свистунова Н.Ю.<sup>2</sup>, Морозов А.И.<sup>2</sup>, Амосова А.В.<sup>1</sup>, Муравенко О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Россия,

г. Москва, ул. Вавилова, 32;

<sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Россия, г. Москва, ул. Грина, 7

[tsamatadze@gmail.com](mailto:tsamatadze@gmail.com)

В настоящее время в лекарственном растениеводстве сортообновлению подлежат практически все культуры, находящиеся в производстве. Многие лекарственные культуры не имеют сортов, или у этих сортов нивелировались хозяйственно-ценные признаки в процессе культивирования. К одному из таких растений относят ноготки лекарственные (*Calendula officinalis* L.). Для получения большого разнообразия форм с ценными хозяйственными признаками используют наряду с рекомбинантной и трансгенной селекцией метод экспериментального мутагенеза. На основе этого метода возможно получение искусственно-мутантных форм, являющихся ценным исходным материалом для селекции. Целью работы было выявить особенности действия химических мутагенов различной концентрации ДМС (диметилсульфат) и ДЭС (диэтилсульфат) при обработке семян сортов *C. officinalis* Золотое море и Райский сад на кариогеномные изменения растений в поколениях  $M_1$  и  $M_2$ . На основании данных анализа мейоза и методов хромосомного анализа: C/DAPI-, Ag-NOR-дифференциального окрашивания, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) проведено кариогеномное исследование сортов и мутантных форм *C. officinalis*. Установлено, что оба вида мутагена оказали воздействие на мейотическое деление, начиная с профазы первого деления мейоза. Выявлено дозозависимое повышение частоты мультивалентов в материнских клетках пыльцы (МКП) при повышении концентрации мутагенов у обоих сортов календулы. У сортов и мутантных форм локализация сайтов 45SpДНК выявлена на спутничных хромосомах 1 и 9, на хромосоме 9 сигнал ярче и крупнее, по сравнению с 1 хромосомой. У сортов выявлен минорный полиморфный сайт 45SpДНК, расположенный медианно в коротком плече хромосомы 5. Крупные локусы 5SpДНК с сигналом высокой интенсивности выявлены в длинном плече, в прицентромерном районе на 10 хромосоме. Дополнительный минорный локус 45SpДНК локализован с сайтом 5SpДНК только на одном гомологе из 10 пары хромосом у сорта Золотое море. После обработки мутагенами, как ДЭС, так и ДМС в кариотипе сорта Золотое море наблюдается полиморфизм по наличию минорного сайта 45SpДНК на хромосомах 5 и 10. В кариотипе  $M_2$  сорта Райский сад минорный локус 45SpДНК на хромосоме 5 не выявлен (ДМС-0,04). Других изменений на хромосомах кариотипов как контроля, так и мутантных форм у сорта Райский сад не выявлено при различных концентрациях используемых мутагенов. Изучение рисунка Ag-ЯОР-окрашивания выявило наличие Ag-положительных районов в области вторичных перетяжек на спутничных хромосомах 1 и 9.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-016-00167.

## ВНУТРИВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОМОВ ОРГАНЕЛЛ ЯЧМЕНЯ (*HORDEUM VULGARE L.*) НА ПРИМЕРЕ КОЛЛЕКЦИИ АЛЛОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ.

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

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, Академическая 27  
m.sin@inbox.ru*

Алло- и изоплазматические линии являются удобной экспериментальной моделью для изучения эффектов и взаимодействия ядерных и цитоплазматических геномов. Маркирование геномов органелл таких форм необходимо для корректной оценки получаемых данных.

Изучение полиморфизма хлоропластной и митохондриальной ДНК у злаков ранее проводилось методами ПДРФ, ПЦР-ПДРФ, микросателлитного анализа, секвенирования отдельных районов и т.д. Развитие и совершенствование подходов к секвенированию нового поколения (NGS) позволяет получать новые уникальные данные о сравнительной изменчивости всего генома, как хлоропластов, так и митохондрий, выделить контрастные плазматипы.

С целью сравнительного исследования геномов органелл в коллекции аллоплазматических линий ячменя (различающихся по происхождению доноров цитоплазм) и их эуплазматических аналогов проведено NGS (Illumina, MiSeq).

Разработан и верифицирован подход к анализу результатов NGS смесей хлоропластной и митохондриальной ДНК ячменя. Собраны новые полные сиквенсы пластидных и митохондриальных геномов *Hordeum vulgare ssp. vulgare*, *H.vulgare ssp. spontaneum*. Проведен сравнительный анализ изменчивости органелльных геномов образцов ячменя из коллекции аллоплазматических линий, получены данные о внутривидовой изменчивости.

Построение филогенетических деревьев на основании полученных полногеномных последовательностей дополняет представления об эволюции внутри рода *Hordeum*.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при поддержке ГПНИ «Биотехнология» 2016-2020гг. задание 2.06.

## КОЛЛЕКЦИЯ *Solanum andigenum* JUZ. ET BUK., КАК ИСТОЧНИК ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНОГО КАРТОФЕЛЯ.

Ситников М.Н., Киру С.Д.

ФБГНУ ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова,  
Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская 42-44.

[genetik@mail.ru](mailto:genetik@mail.ru)

Одной из наиболее актуальных проблем современной селекции является поиск ценных источников генетического разнообразия исходного материала. В картофелеводстве таким источником может служить культурный тетраплоидный вид андийского картофеля *Solanum andigenum*. Благодаря своему полифилетическому происхождению, а также обширному ареалу распространения – 4500 км от южных штатов США до Аргентины, *S. andigenum* может считаться главным источником генетического разнообразия культурного картофеля.

Коллекция *Solanum andigenum*, сохраняемая и поддерживаемая в институте генетических ресурсов растений (ВИР им. Н.И. Вавилова) является второй в мире по численности и насчитывает 2780 образцов, уступая лишь коллекции международного центра по изучению картофеля СІР (Перу), в которой имеется 3550 образцов *S. andigenum*. В коллекции ВИРа имеются образцы из Мексики, Эквадора, Гватемалы, Венесуэлы, Боливии, Колумбии, Перу и Аргентины. Наибольшим количеством образцов представлены Перу (920), Колумбия (629) и Боливия (442), так как на границе этих стран расположен центр введения в культуру *S. andigenum*. Именно в этом районе местные жители возделывают большое количество аборигенных сортов картофеля.

Многолетнее изучение коллекции *S. andigenum* показало, что в коллекции имеются образцы, обладающие рядом важных хозяйственно-ценных признаков. Например, у Центральноамериканских и Аргентинских образцов преобладающими являются крупноклубневые формы, однако крупные клубни встречаются и боливийских и перуанских разновидностей *S. andigenum*. Различными исследованиями установлено, что наибольшее количество ракоустойчивых форм у рода *Solanum* относится к виду *S. andigenum*, в нашей коллекции носителями этого признака являются около 20% образцов. Также в коллекции имеются образцы с устойчивостью к фитофторозу по типу «сверхчувствительности» и носители неспецифической «полевой» устойчивости к фитофторе. Причем, некоторые образцы обладают полигенами кумулятивного действия и сочетают устойчивость к грибковым заболеваниям с толерантностью к различным вирусам. Для некоторых форм *S. andigenum* характерно сочетание устойчивости к фитофторозу надземной части растений и клубней. В коллекции имеются образцы, сочетающие в себе устойчивость к различным заболеваниям, высокое содержание крахмала и хорошие вкусовые качества. Наши исследования показывают, что потенциал этого вида, особенно в области переноса генов устойчивости в геном *S. tuberosum*, использован далеко не полностью.

## НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ СИСТЕМАТИКИ ГОЛОЗЕРНОЙ ПОЛБЫ (*TRITICUM DICOCCUM* (SCHRANK) SCHUEBL.

Смекалова Т.Н., Кобылянский В.Д.

ФГБНУ "Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова" (ВИР им. Н.И. Вавилова), Санкт-Петербург, 190000, ул. Большая Морская, 42-44

[t.smekalova@vir.nw.ru](mailto:t.smekalova@vir.nw.ru)

*Triticum dicoccum* хорошо отличается по морфологическим признакам от других видов пшеницы [1]. Плотные узкие (сжатые), обычно пятицветковые, колосья с ломкой осью снабжены длинными остями; двурядная сторона колосьев обычно шире однорядной; колос легко распадается на отдельные колоски, и др. В последние годы интерес к полбе возрос в связи с диетической ценностью ее зерна, которое используют при изготовлении высококачественных крупяных продуктов для пациентов, страдающих диабетом и сердечно-сосудистыми заболеваниями; *T. dicoccum* активно используется для селекции новых сортов пшениц. Поэтому таксономическая ревизия данного вида актуальна, анализ изменчивости внутривидовых признаков необходим и своевременен [2]. Недостатками полбы в качестве культуры можно считать ломкий колос, трудная вымолачиваемость. Наряду с **плёнчатыми сортами полбы** сейчас выведена **голозёрная полба**, зерно которой легко отделяется от колосковой оболочки, поэтому её легче обмолачивать, при этом целостность зародыша и внешней оболочки не нарушаются. Получена голозерная полба с использованием межвидовых скрещиваний растений разных сортов твердой (голозерной) пшеницы *T. durum* Desf. с растениями разных местных сортов пленчатой полбы *T. dicoccum*; голозерность (обмолачиваемость) растений составляет 95-100%. Выращивается в Среднем и Нижнем Поволжье, на Российском Кавказе, в Предуралье. Данной полбе можно придать статус подвида.

[1]. Dorofeev VF, Udachin, R. A., Semenova L. V., Novikova M. V., Gretchaninov O. D., Shitova I. P., Merezko, A. F., Filatenko, A. A., Wheat in the world. publishing house Agropromizdat, publishing House 2-e, L., 1987, 560 p. [in Russian]. (Дорофеев В.Ф., Удачин Р.А., Семенова Л.В., Новикова М.В., Градчанинова О.Д., Шитова И.П., Мережко А.Ф., Филатенко А.А., Пшеницы мира. изд-во Агропромиздат, Изд-е 2-е, Л., 1987, 560 с.).

[2]. Goncharov N. P. Systematics of the genus *Triticum*: the problem of classifications. // Doc. RAAS. 2000. - № 2. - P. 3-5. [in Russian]. (Гончаров Н.П. Систематика рода *Triticum*: проблема классификаций. // Докл. РАСХН. 2000. - № 2. - С. 3-5).

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по теме № 0662-2018-0013, номер государственной регистрации ЕГИСУ НИОКР: АААА-А16-116040710370-0

## ОЦЕНКА ВНУТРИВИДОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОТИПОВ *CALENDULLA OFFICINALIS* L. ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ МУТАГЕНОВ

Хазиева Ф.М.<sup>1</sup>, Свистунова Н.Ю.<sup>1</sup>, Саматадзе Т.Е.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Россия, Москва, ул. Грина, 7;

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Россия, Москва, ул. Вавилова, 32

[vilar.6@yandex.ru](mailto:vilar.6@yandex.ru)

Ноготки лекарственные (*Calendula officinalis* L.) являются одной из наиболее важных и крупнотоннажных культур, сырьё которых востребовано фармацевтической, пищевой, косметической промышленностью, имеют недостаточно специальных сортов, выведенных для использования в этих отраслях. Наряду с традиционными методами селекции использование метода экспериментального мутагенеза позволяет получить большое разнообразие форм растений с ценными хозяйственными признаками, а также сокращать сроки создания сортов. Материалом для исследования семена ноготков сортов Золотое море и Райский сад, выращенные в Ботаническом саду ВИЛАР в 2014-2016гг. Семена замачивали в растворах мутагенов: ДМС (диметилсульфат) - 0,04 и 0,08% и ДЭС (диэтилсульфат) – 0,025 и 0,05%. Питомник растений  $M_2$  заложен семенами, полученными с индивидуальных растений в  $M_1$ .

Установлено, что наиболее угнетающее влияние на лабораторную всхожесть семян сорта Золотое море оказывают мутагены ДМС в концентрации 0,08% и ДЭС в дозе 0,05%, у сорта Райский сад наиболее угнетающее действие отмечается при более низких концентрациях данных мутагенов. Среди морфологических изменений, возникших после обработки мутагенами в  $M_1$  и  $M_2$  поколениях выявлены: карликовость растений, различные изменения в соцветиях, такие как наличие нескольких корзинок на одном соцветии, многоморфность соцветий и их фасциация, появление махровых форм с увеличенным диаметром соцветия и др. Отмечено, что число семей с морфологическими изменениями больше в %-ном соотношении у сорта Золотое море по сравнению с сортом Райский сад. По содержанию флавоноидов выявлены достоверные различия у изучаемых сортов в зависимости как от типа мутагена так и его концентрации как в  $M_1$  так и в  $M_2$ . Урожайность соцветий у сорта Золотое море резко уступает контролю, тогда как у сорта Райский сад наблюдается стимулирующее действие мутагенов ДМС в дозе 0,08 и ДЭС в дозе 0,025 как в  $M_1$ , так и в  $M_2$  поколениях. На массу 1000 семян сорта Золотое море в  $M_1$  все мутагены и их дозы оказали ингибирующее действие; у сорта Райский сад только ДМС в концентрации 0,04%.

Проведенные исследования показали, что изучение эффективности использования мутагенных агентов в различных концентрациях у ноготков лекарственных позволят расширить генетическое разнообразие растений и реально увеличить возможности отбора, которые можно значительно повысить при сочетании рекомбинационной и мутационной изменчивости.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-016-00167.

## СКРИНИНГ ОБРАЗЦОВ МИРОВОГО ГЕНОФОНДА ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ К ВОЗБУДИТЕЛЮ ЖЕЛТОЙ РЖАВЧИНЫ В УСЛОВИЯХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Грицай Т.И., Худокормова Ж.Н., Полевикова Н.А., Аблова И.Б.

ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко», Россия, г.Краснодар, 350012, п/о-12, Центральная усадьба КНИИСХ

[zxudokormova@mail.ru](mailto:zxudokormova@mail.ru)

Желтая ржавчина (возбудитель *Puccinia striiformis* West.) – распространенное заболевание пшеницы во всех регионах России. Вредоносность её варьирует по годам и регионам. В годы эпифитотий потери урожая достигают 45 – 70% [1]. Успех селекции на устойчивость к патогену зависит от того, насколько исходный материал обладает генетическим разнообразием, способным сдерживать развитие болезни на разных этапах онтогенеза растений. В связи с этим скрининг мировой коллекции и сортов отечественной селекции на устойчивость к желтой ржавчине является актуальным.

Материал исследований ежегодно включал 1500 – 2000 номеров пшеницы мягкой озимой. Устойчивость растений изучали на фоне естественных эпифитотий. Степень поражения желтой ржавчиной определяли по шкале Кобба [2].

Анализ многолетней динамики развития желтой ржавчины показал, что в период 2000 – 2018 гг. в Краснодарском крае было зафиксировано четыре эпифитотийные ситуации (2001, 2009, 2010 и 2018 гг.). В эти годы желтая ржавчина начала проявляться ранней весной (март – апрель) и очень быстро распространялась еще до колошения. На восприимчивых сортах степень поражения патогеном достигала 100%, что приводило к полной потере урожая. Скрининг пшеницы мягкой по устойчивости к желтой ржавчине показал, что степень поражения образцов варьировала по годам. Наибольшее количество резистентных форм (поражение 0-10%) наблюдалось в 2001 году и составило 58,8% от общего количества изученных образцов. В 2009, 2010 и 2018 гг. количество устойчивых сортов составило 30,9; 24,0 и 48% соответственно. Доля умеренно устойчивых образцов (поражение 11-20%) варьировала по годам незначительно: от 6,0 до 8%. Наибольшее количество восприимчивых образцов (поражение более 50%) наблюдалось в 2009, 2010 гг. – 45,3 и 48,1% соответственно. В 2001, 2018 гг. доля восприимчивых составила 18,9 и 21,5%.

Для успешной генетической защиты пшеницы от желтой ржавчины рекомендованы образцы, резистентность которых детерминирована генами устойчивости Yr9 (Веха, Велена, Баграт); Yr17 (Морозко, Граф, Сварог, Гомер); Yr18 (Дмитрий, Есаул, Безостая 100); Yr30 (Утриш), эффективными в разной степени в условиях Краснодарского края.

Литература

[1]. Санин С.С., Фитосанитарная обстановка на посевах пшеницы в Российской Федерации / С.С. Санин, Л.Н. Назаров // Защита и карантин растений. – 2010. - №2. – с. 20.

[2]. Peterson R.F., A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals / R.F. Peterson, A.B. Cambell, A.E. Hannah //Can. J. Res. 1948. V. 26. P. 496-500.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ОТБОРА В ПРОЦЕССЕ ИНТРОДУКЦИИ ПАЖИТНИКА НА СЕВЕРНОМ КАВКАЗЕ

Чумакова В.В., Чумаков В.Ф.

ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ», Россия, Ставропольский край, г. Михайловск, ул. Никонова, д. 49

[sosna777@bk.ru](mailto:sosna777@bk.ru)

Пажитник греческий является довольно известным растением Кавказа. Его используют как пряное растение в пищу, так и лекарственное. Как бобовое растение - в качестве кормовой культуры. Наибольший интерес представляют семена.

В регионе культура не нашла широкого распространения в связи с отсутствием сортов, приспособленных к возделыванию в засушливых условиях Северного Кавказа. Создание нового сорта пажитника греческого Амулет определило возможность получения достаточного количества семян и перевода культуры из статуса редкого (нетрадиционного) вида.

Одним из важных эффектов отбора селективируемого образца является достижение выравненности травостоя интродуцируемого материала.

Используемые в качестве исходного материала коллекционные образцы пажитника различного эколого-географического происхождения характеризовались довольно растянутым периодом прорастания и неодновременным созреванием, невыравненностью по высоте, облиственности и общему габитусу растений. Методом отбора (в сочетании нескольких его вариантов) удалось получить исходные формы с отсутствием всех перечисленных недостатков.

Одновременность созревания всех растений сорта Амулет определила повышение семенной продуктивности. В конкурсном испытании урожайность семян составила 6-7 ц/га, в то время как урожайность стандартного сорта Успех была на уровне 3-4 ц/га, а исходной популяции 2-3 ц/га.

Не менее важным эффектом отбора является повышение урожайности зеленой массы. Отбор наиболее мощных, высокооблиственных растений позволил повысить продуктивность на 23%. Методом отбора удалось получить селекционный материал с содержанием в сухом веществе до 173 г/кг сырого протеина, 312 г/кг сырой клетчатки, 940 МДж обменной энергии, 0,72 кг кормовых единиц.

Наряду с изучением хозяйственно ценных признаков были установлены биохимические показатели семян. Содержание жирного масла составило от 10,8 до 11,3%, обладающего очень приятным и стойким грибным ароматом.

Таким образом, на всех этапах интродукционно-селекционного процесса вмешательство искусственного отбора обеспечивает улучшение многих признаков и свойств интродуцируемого материала.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ СОРТОВ УНИВЕРСАЛЬНОЙ РЖИ С НИЗКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ВОДОРАСТВОРИМЫХ АРАБИНОКСИЛАНОВ, ЗЕРНО КОТОРЫХ ПРИГОДНО ДЛЯ ЗЕРНОФУРАЖНОЙ И ХЛЕБОПЕКАРНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Кобылянский В.Д., Солодухина О.В.

*Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская 42,44  
osolodukhina@yandex.ru*

Использование зерна ржи на корм животным ограничено наличием в нем большого количества (1,7-3,0%) водорастворимых пентозанов (арабинозы и ксилозы) - ВАК, что в 3 раза больше, чем в зерне других зерновых культур. Арабиноксиланы в желудке животных образуют слизи, которые не гидролизуются ферментами животных и не сбрасываются дрожжами и в результате ограничивают доступ пищеварительных ферментов к питательным веществам зерна и препятствуют всасыванию продуктов пищеварения. В ВИРе в 2004-2016 гг. проведены исследования по развитию нового направления в селекции зернофуражной ржи – «Создание ржи с низким содержанием водорастворимых пентозанов в зерне». В результате исследований определена роль пентозанов в «жизни» растений. Изучено наследование, изменчивость и экспрессия низкого содержания ВАК в зерне. Установлено полигенное рецессивное наследование признака. Показано сохранение низкого содержания ВАК ржи при изменении внешних условий среды. Выявлена анатомо-морфологическая обусловленность зерна и признака ВАК и определен диагностический маркер низкопентозановости. Изучение 502 образцов коллекции ржи из мирового генофонда показало, что их популяции содержат формы растений с низким (0,5-0,8%) содержанием ВАК в зерне с частотой 0,1-50%. Среди них только 5 популяций содержат 20% низкопентозановых зерновок и 3 – 40-50% таких зерновок. Выявлено уменьшение на 40-60% толщины перикарпия и алейронового слоя низкопентозановых зерновок по сравнению с высокопентозановыми. Эта причинно-следственная связь, указывающая на место локализации арабиноксиланов, позволила сформулировать стратегию и разработать технологию селекции и семеноводства низкопентозановой ржи. Совместно с селекционерами других научных учреждений созданы и в 2016-2018 гг. районированы 5 сортов зернофуражной ржи, зерно которой не образует вязких слизей в желудке животных и характеризуется высокой поедаемостью и по питательной ценности превосходит все зерновые культуры. В связи с этим снижение конверсии корма может достигать 42% по сравнению с традиционными кормами. По хлебопекарным свойствам не отмечено значительных различий муки из зерна низкопентозановых и хлебопекарных сортов. У низкопентозановых сортов по сравнению с традиционными отмечено незначительное уменьшение выхода отрубей при увеличении выхода муки на 6-18%. По хлебопекарным свойствам зерно с низким содержанием ВАК не выходит за пределы, установленные Государственными стандартами.

## Симпозиум VI: Посттрансляционные процессы / Symposium VI: Posttranslational Processes

### DIFFERENTIAL EFFECTS OF MOLECULAR CHAPERONES AND PROTEIN-SORTING FACTORS ON YEAST PRIONS

Barbitoff Y.A.<sup>1</sup>, Matveenko A.G.<sup>1,2</sup>, Moskalenko S.E.<sup>2</sup>, Zemlyanko O.M.<sup>1</sup>, Jay-Garcia L.M.<sup>3</sup>, Newnam G.P.<sup>3</sup>, Patel A.<sup>3</sup>, Chernoff Y.O.<sup>1,3</sup>, Zhouravleva G.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg State University, Russia, Saint-Petersburg, 199034, Universitetskaya emb. 7/9

<sup>2</sup>Vavilov Institute of General Genetics of Russian Academy of Sciences, Russia, Saint-Petersburg, 199034, Universitetskaya emb. 7/9

<sup>3</sup>Georgia Institute of Technology, USA, Georgia, Atlanta, GA 30332-2000, 950 Atlantic Drive, Engineered Biosystems Bldg.

[barbitoff@bk.ru](mailto:barbitoff@bk.ru)

Prions of baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* are heritable genetic determinants represented by self-perpetuating protein aggregates. These protein aggregates propagate due to tight interaction with the cellular protein quality control (PQC) system, *i.e.* molecular chaperones and protein-sorting factors. In this study we systematically assessed the effects of different PQC components on the propagation of the two most studied yeast prions, [*PSI*<sup>+</sup>] and [*URE3*].

We show that, contrary to a common view, overexpression of the major chaperone involved in maintenance of yeast prions, *HSP104*, cures both [*PSI*<sup>+</sup>] and [*URE3*]. On the other hand, overproduction of the other major protein involved in yeast prion life cycle, Hsp70-Ssa1, does not exert any observable effect on any of the prions. We also show that the two major chaperones of the Hsp40 group, Sis1 and Ydj1, exhibit differential effects on [*PSI*<sup>+</sup>] and [*URE3*]. We demonstrate that overproduction of Ydj1, but not Sis1, cures [*URE3*] but enhances phenotypic manifestation of [*PSI*<sup>+</sup>]. On the other hand, we show that relocalization of the other major cytosolic Hsp40 Sis1 into the nucleus affect yeast prion propagation similarly to the overexpression of *YDJ1*. We discover that such changes in the intracellular balance of Hsp40 occur upon overexpression of the protein-sorting factor Cur1, which also differentially affects yeast prion propagation. We link such differential effects of different chaperones to their varying ability to facilitate two distinct activities of the Hsp104 complex, *i.e.* fibril fragmentation and malpartition of prion seeds. Our results indicate that Sis1 is strictly required for fragmentation of the [*URE3*] fibrils, while binding of Sis1 to the prion aggregates of [*PSI*<sup>+</sup>] mostly stimulates the anti-prion malpartition process. Hence, when Sis1 is downregulated or relocalized to the nucleus, such changes impair [*URE3*] propagation while not affecting or even increasing transmission of the [*PSI*<sup>+</sup>] prion seeds.

Our results highlight complex interactions between different protein aggregates and molecular chaperones in the eukaryotic cells, and emphasize the importance of intracellular chaperone balance for prion propagation.

Acknowledgements: This work was supported by grants from SPBU (15.61.2218.2013), Russian Foundation for Basic Research (16-04-00202, 18-34-00536, and 18-34-00537), and National Science Foundation (MCB 1516872). Equipment of the Resource Center "Development of Molecular and Cell Technologies" of SPBU was used in this study

## HUMAN NUCLEOPORIN NUP58 IS A NEW AMYLOID WHICH IS COLOCALIZED WITH 103QP PROTEIN IN YEAST MODEL

Danilov L.G.<sup>1</sup>, Matveenko A.G.<sup>1</sup>, Belousov M.V.<sup>1,2</sup>, Moskalenko S.E.<sup>3,1</sup>, Bondarev S.A.<sup>1</sup>, Zhouravleva G.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>St Petersburg State University, Russia, St Petersburg, Universitetskaya emb. 7/9;

<sup>2</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Russia, St Petersburg, Podbelskogo hwy. 3;

<sup>3</sup>Vavilov Institute of General Genetics, St Petersburg Branch, Russia, St Petersburg, Universitetskaya emb. 7/9;

[lavrentydanilov@gmail.com](mailto:lavrentydanilov@gmail.com)

Amyloids are a group of protein aggregates possessing a set of unusual features including resistance to detergent or protease treatment and their ability to induce the transition of some proteins from soluble to aggregated form. Numerous investigations of amyloids are of much interest due to increasing frequency of amyloid-associated disorders. One of such diseases is Huntington's disease, which is an inherited disorder accompanied by the encephalopathy and the accumulation of amyloid aggregates of the Huntingtin protein (Htt). Several proteins interacting with these aggregates are supposed to be amyloidogenic. Coaggregation of these proteins with Htt may cause or accelerate development of the disease.

To identify such proteins we have screened human proteome, focusing on proteins physically interacting with Htt according to the BioGRID database. These proteins were analyzed with ArchCandy and IUPred programs to identify amyloidogenic regions within unstructured part of the protein. This allowed to find a set of potential amyloids, including Nup58, a component of a midplane ring of nuclear pore complex. This protein is implicated in regulation of nucleocytoplasmic traffic of different RNA's.

To check amyloid properties of Nup58 we used the well-known C-DAG (curli-dependent amyloid generator) system. We found that overproduction of Nup58 in *Escherichia coli* leads to staining of the bacterial cells with Congo Red dye. Using transmission electronic microscopy we have shown that Nup58 forms fibrils on the cell surface. We also tested the ability of the Nup58 to form amyloid aggregates *in vitro*. We incubated the protein in the buffer for aggregation at 37°C degrees during 96 hours. Obtained Nup58 aggregates were resistant to SDS treatment according to results of SDS-PAGE and SDD-AGE analysis and stained by Thiofavin T and Congo Red dyes.

Finally, we demonstrated, that Nup58p fused to EGFP formed fluorescent foci when overproduced in the yeast cells. Nup58 aggregates from cellular lysates were resistant to SDS treatment according to the results of SDD-AGE analyses. Also, we demonstrated that aggregates of Nup58 colocalized with aggregates of 103QP, but not with 25QP. These constructions correspond to glutamine (Q) and proline (P) rich regions of Htt, and they are often used to model Htt aggregation in yeasts.

All these results allowed us to suggest that Nup58 is a candidate for new human amyloid, which can coaggregate with Htt. The research was supported by the Russian Science Foundation (17-74-10159) and by RRC MCT SPbSU.

## MUTATIONS IN C-PART OF SUP35 INFLUENCE PROPERTIES OF $[PSI^+]$ FACTOR IN YEASTS

O.M. Zemlyanko<sup>1</sup>, E.M. Maksutenko<sup>1</sup>, N.P. Trubitsina<sup>1</sup>, T.M. Rogoza<sup>1,2</sup>, E.I. Porfirieva<sup>1</sup>, G.A. Zhouravleva<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Department of genetics and biotechnology, Saint-Petersburg State University, Russia, Saint-Petersburg, 199034, Universitetskaya nab. 7-9

<sup>2</sup> Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, St. Petersburg Branch Saint-Petersburg, Russia, Saint-Petersburg, 199034, Universitetskaya nab. 7-9

[o.zemlyanko@spbu.ru](mailto:o.zemlyanko@spbu.ru)

The cytoplasmic  $[PSI^+]$  factor is one of the best characterized yeast prions.  $[PSI^+]$  is formed by Sup35 protein aggregates. Sup35p is encoded by the *SUP35* gene. It consists of the nonessential N-terminal  $[PSI^+]$  prion forming domain; the charged middle (M) domain, which maintains  $[PSI^+]$ , and the C-terminal domain with GTP-binding sites essential for translation termination activity. Mutations in the *SUP35* gene leads to nonsense suppression,  $[PSI^+]$  have the same effect. Previously it was shown that mutations in N-terminal domain of Sup35p affect  $[PSI^+]$  appearance and maintenance. However, it has been demonstrated that mutations in Sup35p C-terminal domain can also change  $[PSI^+]$  properties. In this work, we have studied *sup35-228*, *sup35-10*, and *sup35-25* mutations located in the GTP-binding region of Sup35p. Using SDD-AGE, we have shown that  $[PSI^+]$  is lost in the presence of only mutant alleles (*sup35-228*, *sup35-10*, *sup35-25*). Using fluorescent microscopy we additionally demonstrated that *sup35-228* do not maintain pre-existing  $[PSI^+]$ . However, several clones were obtained (less than 10%), which retained the  $[PSI^+]$  factor, but at the same time replaced the mutant *sup35* allele with the wild-type allele. Our results indicate that  $[PSI^+]$  is incompatible with mutations in the C-terminal domain of Sup35p, but reasons of this effect remained unclear. We supposed that this phenomenon may be caused by the  $[PSI^+]$  destabilization or inability of mutant Sup35p to form and maintain prion aggregates. In order to test this hypothesis we analyzed properties of missense-mutant proteins *in vitro*. We have shown that mutated Sup35 proteins form aggregates with high molecular weight and their protein aggregation rate is faster relative to the wild-type Sup35p. However, the amyloid nature of these aggregates requires confirmation. Another reason for incompatibility of *sup35* missense-mutations and  $[PSI^+]$  may be significant translation termination impairment.  $[PSI^+]$  sequester functional Sup35p into prion aggregates, this possibly leads to dramatic reduction in accuracy of translation termination and cell death. Taken together, our data suggest that the non-prion C-domain of Sup35p is involved in the process of  $[PSI^+]$  appearance and maintenance.

This work was supported by grant from RSF 18-14-00050, RFBR 17-54-150002, technical help was provided by Resource Center «Development of Molecular and Cell Technologies»

## EFFECT OF SHORT-TERM DROUGHT ON PEA SEED METABOLOME

Kuznetsova A.,<sup>1,2</sup> Chantseva V.,<sup>1,3</sup> Vikhnina M.,<sup>1</sup> Shiroglazova O.,<sup>3</sup> Soboleva A.,<sup>1,4</sup> E. Dinastia,<sup>1,4</sup> Dorn M.,<sup>4</sup> Grishina T.,<sup>1</sup> Shumilina J.,<sup>1</sup> Smolikova G.,<sup>3</sup> Medvedev S.,<sup>3</sup> Bilova T.,<sup>3</sup> Wessjohann L. A.,<sup>4</sup> Frolov A.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg State University, Department of Biochemistry, St. Petersburg, Russia, <sup>2</sup>St. Petersburg Chemical Pharmaceutical University, Department of Biotechnology, St. Petersburg, Russia, <sup>3</sup>St. Petersburg State University, Department of Plant Physiology and Biochemistry, St. Petersburg, Russia, <sup>4</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry, Halle (Saale), Saxony-Anhalt, Germany  
[alena\\_kyy@mail.ru](mailto:alena_kyy@mail.ru)

Drought is one of the most important factors, affecting crop productivity and plant viability. Generally, plant survival under drought conditions depends on ability of roots to supply plants with water and nutrients. Therefore, due to symbiosis with rhizobia, legume crop plants represent a group, relatively sensitive to drought. Indeed, water deficit might affect integrity of nodules, reducing symbiosis efficiency and influencing seed maturation. To address the drought-related changes in metabolome of maturing seeds, we analyzed the relative levels of primary and secondary seed metabolites upon application of experimental drought. For this, drought was applied to six-week old plants for two days with aqueous 2.5% (w/v) polyethylene glycol 8000 (PEG8000). Afterwards, plants were grown on a PEG-free substrate, and mature seeds were harvested, ground, and the resulted powders were extracted with appropriate solvents. Primary, energy and secondary semi-polar metabolites were analyzed with GC-, LC-QqQ- and QqTOF-MS, respectively. The analysis revealed 217 metabolites demonstrating significant differences in abundance. Among these, 68, 82 and 67 analytes represented primary, energy, and secondary metabolites, respectively. However, only 27 primary and 11 secondary semi-polar metabolites were identified by library spectral similarity search, whereas 82 energy metabolites were quantified by a targeted approach. Thus, the metabolic response of pea seeds is accompanied with a dramatic decrease in the contents of primary metabolites. Among them, energy metabolites demonstrated a general decrease in abundance. However, the relative abundance of methionine, inositol and four unknown sugars increased. The research was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project 18-016-00190).

## PREDICTION OF AMYLOIDOGENIC PROTEINS INTERACTING WITH HUMAN FUNCTIONAL AMYLOIDS RIP1 AND RIP3

Matiiv A.B., Bondarev S.A., Danilov L.D., Zhouravleva G.A.

*Saint Petersburg State University, Russia, Saint Petersburg, 7/9 Universitetskaya Emb.  
antonmatiiv@yandex.ru*

Amyloids are protein aggregates with unusual features, such as high resistance to protease and detergent treatment. Amyloids were first identified in connection with human diseases, amyloidosis, for instance, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, type II diabetes, in which proteins or peptides form amyloid fibrils. Further studies have shown a list of functional amyloid fibrils that perform physiological roles in humans.

The discovery of co-aggregating amyloidogenic proteins has showcased the existence of a new and understudied type of intermolecular interactions. It is now becoming more and more obvious that such interactions might play an important role in physiology of human and animals mediated via functional amyloids. For instance, RIP1 and RIP3 kinases are human proteins playing the central role in TNF-induced necrosis. It was reported that the RIP homotypic interaction motifs (RHIM) of RIP1 and RIP3 can co-aggregate to each other with formation of filamentous structures. These fibrils exhibit the classic characteristics of  $\beta$ -amyloids, such as Thioflavin T and Congo Red Binding, circular dichroism, infrared spectroscopy, X-ray diffraction and solid-state NMR [1].

To reveal new proteins that can co-aggregate with RIP1 and RIP3 we performed wide scale bioinformatical screening for amyloidogenic proteins interacting RIP1/RIP3. We analyzed a set of proteins, which physically interact with RIP1/RIP3 according to BioGRID database. The ArchCandy program and IUPred tool were used for prediction of amyloidogenic and disordered regions, respectively. Proteins with overlapping aggregation-prone and unstructured sequences were considered as candidates for new amyloids. Such analysis revealed 15 suitable proteins (13 human, 1 yeast and 1 viral) for RIP1 and 3 (2 human and 1 yeast) for RIP3, implicated in different cellular processes. Potential amyloidogenic viral FLICE protein that interacts with RIP1 is of great interest, because it initiates an important range of cellular processes to promote cell survival, proliferation and protection from apoptosis, while RIP1, on the other hand, transduces inflammatory and cell-death signals resulting in programmed necrosis. Further work will be focused on the verification of amyloidogenic properties of revealed proteins.

The research was supported by the RFBR (17-54-150002) and by Resource Center "Computer Center of SPbU".

[1]. Li J. et al. The RIP1/RIP3 necrosome forms a functional amyloid signaling complex required for programmed necrosis // 2012, Cell., V. 150., P. 339-350

## USAGE OF RED FLUORESCENT PROTEINS FOR VISUALIZATION OF [PSI<sup>+</sup>] AGGREGATES

Ryzhkova V. E.<sup>1</sup>, Matveenko A. G.<sup>1</sup>, Danilov L. G.<sup>1</sup>, Bondarev S. A.<sup>1</sup>, Zhouravleva G. A.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Department of Genetics and Biotechnology, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia.

[ya\\_barbara@mail.ru](mailto:ya_barbara@mail.ru)

Prions are heritable self-assembled protein aggregates. [PSI<sup>+</sup>] is one of the most studied prions described in *Saccharomyces cerevisiae*. [PSI<sup>+</sup>] is the prion form of translational termination factor eRF3 (Sup35). Aggregated Sup35 causes defects in termination of translation, which results in nonsense suppression in strains, carrying premature stop-codons. N-terminal domain of Sup35 is necessary for maintaining [PSI<sup>+</sup>] in cells, while middle (M) domain affects properties of the prion. Overproduction of N-domain or NM-domains (Sup35NM) leads to increase in frequency of prion formation. C-domain is responsible for translational release function, but doesn't affect the Sup35 prion properties.

Fluorescent proteins, fused with Sup35NM, are usually applied for visualizing [PSI<sup>+</sup>] aggregates. Previously, the variants of Sup35NM, which carried substitutions in N-domain and fused to GFP, were obtained. To study colocalization of mutant and wild type Sup35NM, red fluorescent protein contrasting GFP is required. We constructed vector for *SUP35NM-mCherry* expression in yeast. However, instead of the expected aggregates we observed diffuse Sup35NM-mCherry fluorescence in [PSI<sup>+</sup>] strains. Nevertheless, analysis of the phenotypes did not show any loss of the prion in these strains. We suggested that aggregates were not observable due to Sup35NM-mCherry proteolysis. We substituted mCherry for another red fluorescent protein yTagRFP-T, resulting in Sup35NM-yTagRFP-T construct. Production of this protein allowed detection of [PSI<sup>+</sup>] aggregates in contrast to mCherry. On the other hand, Western-blot analysis of protein lysates showed that both Sup35NM-yTagRFP-T and Sup35NM-mCherry undergo more intensive degradation than Sup35NM-GFP. Thus, it is possible that degradation products of Sup35NM-mCherry may preserve their fluorescence properties, resulting in diffuse fluorescence despite the presence of the aggregates in the cells. Thus, using red fluorescent protein mCherry does not allow to visualize [PSI<sup>+</sup>] aggregates in contrast to yTagRFP-T. However, both red fluorescent proteins cause increased Sup35NM-RFP degradation, so they are not optimal for visualization of [PSI<sup>+</sup>] aggregates. Using Sup35NM-yTagRFP-T construct we showed colocalization of the wild-type protein with Sup35NM-M0 variant with two aminoacid substitutions (Q33K and A34K), which exhibits anti-prion properties.

The work is supported by RC MCT SPbSU and by RFBR grants 18-34-00536 and 19-04-00173.

## ТОН1 – НОВЫЙ АМИЛОИДОПОДОБНЫЙ БЕЛОК КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИЙ С БЕЛКАМИ-ПРИОНАМИ RNQ1 И SUP35

Сергеева А.В.<sup>1</sup>, Сопова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Белашова Т.А.<sup>1,2</sup>, Галкин А.П.<sup>1,2</sup>, Задорский С.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра Генетики и Биотехнологии, Санкт-Петербургский Государственный Университет, 199034, Университетская наб. 7/9, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН, 199034, Университетская наб. 7/9, Санкт-Петербург, Российская Федерация.

[sergeeva010595@gmail.com](mailto:sergeeva010595@gmail.com)

Амилоиды - белковые фибриллы, в которых мономеры одного белка связываются друг с другом за счет формирования упорядоченных межмолекулярных бета слоев. Это прочные и одновременно эластичные структуры, устойчивые к обработке протеазами и детергентами. Известны функциональные амилоиды - белки, выполняющие свою роль в клетке в амилоидной конформации.

Способность образовывать амилоидные фибриллы ранее была показана для нескольких белков клеточной стенки (КС) разных видов дрожжей: Als3 и Als5 *Candida albicans*, Flo1, Muc1 и Bgl2 *Saccharomyces cerevisiae*. Предполагается, что КС дрожжей, предотвращающая лизис клетки и, защищающая ее от негативного воздействия факторов внешней среды, может содержать целый комплекс амилоидных белков, участвующий в поддержании ее структуры.

Недавно разработанный в нашей лаборатории метод поиска амилоидоподобных белков в масштабе протеома «PSIA-LC-MALDI» [1] позволил выявить ряд новых потенциальных амилоидов, в т.ч. несколько белков КС дрожжей [2]. В этой работе мы продемонстрировали амилоидные свойства одного из них - GPI-заякоренного белка КС Toh1. Мы показали, что Toh1 образует SDS-устойчивые агрегаты в клетках дрожжей. В бактериальной системе C-DAG амилоидогенные фрагменты Toh1 образуют экстраклеточные амилоидные фибриллы, окрашиваемые Конго красным и демонстрирующие двойное лучепреломление в поляризованном свете. Мы предлагаем возможную модель организации амилоидных фибрилл Toh1 и других амилоидных белков КС дрожжей и акцентируем внимание на лабильности данного типа организации КС.

Мы показали физическое взаимодействие белка Toh1(20-365)-YFP с прионными доменами дрожжевых белков Rnq1 и Sup35, слитыми с CFP. Это один из немногих известных случаев взаимодействия Q/N-богатых и не-Q/N-богатых амилоидов, свидетельствующий о том, что физическое взаимодействие различных амилоидных белков может определяться не только подобием их первичных структур, но и сходством их вторичных структур и укладки. Эти данные могут быть полезны при изучении амилоид-амилоидных взаимодействий в патогенезе амилоидозов человека и животных.

[1]. Nizhnikov A.A. et al., Interaction of prions causes heritable traits in *Saccharomyces cerevisiae*. // 2016, PLoS Genet., 12:e1006504.

[2]. Ryzhova T.A. et al., Screening for amyloid proteins in the yeast proteome. // 2018, Curr Genet.; V. 64(2), P. 469-478.

**Благодарности:** данная работа была выполнена при поддержке грантов РНФ № 14-50-00069, РФФИ № 18-34-00420 и ресурсных центров «ЦКП ХРОМАС» и «РМиКТ» научного парка СПбГУ.

## CHARACTERISTIC OF [*PSI*<sup>+</sup>] PRION VARIANTS WITH PREDICTED STRUCTURE OF SUP35 AGGREGATES

Smirnova E.Y. , Likholetova D.V., Zemlyanko O.M., Bondarev S.A., Zhouravleva G.A.  
*Saint Petersburg State University, Russia, Saint Petersburg. 7/9 Universitetskaya emb.*  
[j.baenre@mail.ru](mailto:j.baenre@mail.ru)

Prions are infectious amyloids, which can induce conformational changes of native protein into the prion conformation. Prion aggregates, as most amyloids, have cross- $\beta$ -structure, which can be very polymorphic. This provides a basis for existence of prion variants, which may differ in structure of aggregates and phenotypic manifestation. Noteworthy, that the differences in the aggregates structure seem to determine properties of the prion strains, but details of this relationship are still unclear.

The [*PSI*<sup>+</sup>] is one of the most well-studied yeast prion. The appearance of [*PSI*<sup>+</sup>] is caused by aggregation of yeast release factor, Sup35, and leads to read-through of preliminary stop codons (nonsense-suppression). The distinct variants of [*PSI*<sup>+</sup>] prion were described and traditionally classified into two groups: “strong” and “weak”. They differ from each other in structure of Sup35 aggregates, efficiency of nonsense suppression, mitotic stability, size of aggregates, etc. Strong [*PSI*<sup>+</sup>] variants have stronger suppressor phenotype, higher mitotic stability, but smaller size of aggregates than weak [*PSI*<sup>+</sup>] variants. The collection of [*PSI*<sup>+</sup>] strains was obtained in our laboratory. For most of them conformation of aggregated Sup35 was predicted based on mutational analysis and predictions of the program BetaSerpentines [1].

We characterized nineteen [*PSI*<sup>+</sup>] strains from the collection, the strength of nonsense-suppressor phenotype and mitotic stability were estimated. We described four new strong and ten weak [*PSI*<sup>+</sup>] variants among the analyzed strains. Five variants are unstable and characterized by clonal variability leading to loss of the prion. To provide a detailed description we are going to characterize sizes and morphology of Sup35 aggregates, their infectivity, and then compare the data with structural models to investigate the relationship between structure of amyloids and properties of prions.

The research was supported by the RFBR 17-54-150002 and by Resource Center "Computer Center of SPbU".

[1]. Bondarev S.A., Bondareva O.V., Zhouravleva G.A., Kajava A.V., BetaSerpentine: a bioinformatics tool for reconstruction of amyloid structures. // 2018, Bioinformatics, V.34, № 4, P. 599-608.

## STUDY OF THE AMYLOID CHARACTERISTIC OF PROTEINS UBQLN1 AND UBQLN2 IN THE YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Sukhanova K.V.<sup>1</sup>, Danilov L.G.<sup>1</sup>, Bondarev S.A.<sup>1,2</sup>, Zhouravleva G.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Genetics and Biotechnology, St Petersburg State University, St Petersburg, Russia, Universitetskaya emb. 7-9;*

<sup>2</sup>*Laboratory of Amyloid Biology, St Petersburg State University, St Petersburg, Russia, Universitetskaya emb. 7-9;*

*sukhanovaxenia@gmail.com*

Amyloid fibrils are filamentous self-assembled aggregates of peptides or proteins that form cross- $\beta$ -structures. They can be distinguished from other aggregates by their specific characteristics: detergent-resistance (e.g. SDS, Sarkosyl), staining with specific dyes (Thioflavin and Congo Red), and cross- $\beta$ -structure. Today, investigation of amyloids is very significant, because they are associated with lots of disorders, for instance, Alzheimer's disease (APP, A $\beta$ ), Huntington's disease (Htt), Parkinson's disease ( $\alpha$ -synuclein) and type II diabetes (IAPP), etc. From another point of view, the discovery of functional amyloids attracts the additional attention to the amyloidogenesis.

The main goal of our work is to find new proteins which can co-aggregate with known amyloids. We have chosen the ArchCandy program for the bioinformatical prediction of amyloidogenic properties. This tool has the minimal rate of false-positive results. We considered protein to be amyloidogenic according to the ability to form  $\beta$ -structures in the non-structured regions. Then the large-scale analysis of proteins physically interacting with amyloid protein huntingtin (Htt) was performed. According to the prediction of ArchCandy two ubiquitin-like proteins – UBQLN1 and UBQLN2 – are ones of the most probable candidates. These two proteins take part in proteasomal degradation of unfolded proteins and autophagy. UBQLN1 also possesses chaperone activity and physically interacts with APP (amyloid precursor protein). These data allow us to suppose the co-aggregation of these proteins and the existence of the unknown network of amyloids.

Using advantages of the yeast model system, we have demonstrated that the full-length proteins, UBQLN1 and UBQLN2, fused to EGFP form fluorescent foci with different morphology and size when they are overproduced. Moreover, the presence of the amyloid aggregates of Rnq1 (another Q-rich protein) affects the UBQLN1-EGFP aggregation pattern. We have also analyzed UBQLN1 and UBQLN2 in the curli-dependent amyloid generator system and obtained the preliminary results that they form amyloidogenic aggregates. Taken together these results allow us to suggest that UBQLN1 and UBQLN2 can be candidates for new human amyloids and can co-aggregate with Q-rich proteins.

The research was supported by the Russian Science Foundation (17-74-10159) and by RRC MCT SPbSU.

## НОНСЕНС-МУТАЦИЯ *SUP35-74* ПРИВОДИТ К ИЗМЕНЕНИЮ СВОЙСТВ ПРИОНА [*PSI*<sup>+</sup>] У ДРОЖЖЕЙ *S.CEREVISIAE*

Трубицина Н.П.<sup>1</sup>, Землянко О.М.<sup>1</sup>, Рогоза Т.М.<sup>1,2</sup> Максютенко Е.М.<sup>1</sup>, Белоусов М.В.<sup>1,3</sup>, Бондарев С.А.<sup>1</sup>, Журавлева Г.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб. 7-9;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН, Россия, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб. 7-9;

<sup>3</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Россия, Санкт-Петербург, Пушкин, 196608, шоссе Подбельского, д. 3

[st022948@student.spbu.ru](mailto:st022948@student.spbu.ru)

Прионизация – это аномальная агрегация белка, которая проявляется в накоплении инфекционных конформаций. У человека и млекопитающих прионизация белка PrP приводит к развитию нейродегенеративных заболеваний. Однако, у дрожжей описано порядка 10 различных прионов и прионоподобных детерминантов, некоторые из которых не только не вредны для клетки, но и могут улучшать ее жизнеспособность. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются удобным модельным эукариотическим объектом, поэтому их прионы активно исследуют, а полученные знания применяют для изучения прионных и амилоидных заболеваний человека и млекопитающих. [*PSI*<sup>+</sup>] – один из самых хорошо изученных прионов. Он образуется за счет прионизации белка Sup35 (eRF3), который участвует процессе терминации трансляции. Агрегация Sup35<sup>p</sup>, как и мутации в жизненно важном гене *SUP35*, который его кодирует, приводят к снижению эффективности терминации трансляции, что способствует проявлению нонсенс-супрессии. Одним из направлений работы нашей лаборатории является изучение влияния мутаций в гене *SUP35* на свойства приона. Большинство мутаций, влияющих на [*PSI*<sup>+</sup>] показаны для N-терминального участка белка Sup35, который не является жизненно важным для клетки, но необходим для возникновения и поддержания стабильности приона. В представленной работе мы охарактеризовали влияние спонтанной мутации *sup35-74* на [*PSI*<sup>+</sup>]. Данная нонсенс-мутация приводит к возникновению преждевременного стоп-кодона в рамке считывания белка, при этом в клетке синтезируются укороченный белок Sup35-74<sup>p</sup> (при преждевременной терминации) и полноразмерный Sup35<sup>p</sup> (за счет нонсенс-супрессии). Мы показали, что диплоидные штаммы [*PSI*<sup>+</sup>] дрожжей, несущие аллель *sup35-74*, жизнеспособны, в отличие от гаплоидных штаммов [*PSI*<sup>+</sup>]. При этом у диплоидных штаммов [*PSI*<sup>+</sup>] в присутствии мутации *sup35-74* изменяются свойства агрегатов Sup35<sup>p</sup>, возможной причиной чего может являться включение укороченного белка Sup35-74 в состав [*PSI*<sup>+</sup>] агрегатов. Кроме того, для клеток, содержащих мутантную аллель *sup35-74* показана индукция приона в клетке [*psi*<sup>-</sup>] *de novo*. Таким образом, укороченные белки, синтезирующиеся в штаммах с нонсенс-мутациями в гене *SUP35*, представляют собой уникальную модель для изучения свойств приона [*PSI*<sup>+</sup>].

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РНФ 18-14-00050 и ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

## БЕЛОК MUNC18-1 ФОРМИРУЕТ ДЕТЕРГЕНТ-УСТОЙЧИВЫЕ АМИЛОИДОПОДОБНЫЕ АГРЕГАТЫ В МОЗГЕ КРЫСЫ *RATTUS NORVEGICUS*

Чиринскайте А.В.<sup>1</sup>, Синюкова В.А.<sup>2</sup>, Велижанина М.Е.<sup>1</sup>, Белашова Т.А.<sup>2</sup>, Сопова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Задорский С.П.<sup>1,2</sup>, Галкин А.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7-9; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал института общей генетики им. Н.И. Вавилова, РАН, Россия, Санкт-Петербург,  
[ChirinskaiteA@yandex.ru](mailto:ChirinskaiteA@yandex.ru)

Амилоиды – это упорядоченные белковые фибриллы, в которых бета-складчатые листы формируются за счет образования межмолекулярных водородных связей. Среди их свойств выделяют устойчивость к воздействию ионных детергентов при комнатной температуре и окрашивание амилоид-специфичным красителем Конго красным. Среди большого разнообразия амилоидов выделяют как патологические, вызывающие тяжелые заболевания человека и животных, так и функциональные, играющие важную биологическую роль. Мы проводили поиск кандидатов на роль функциональных амилоидов в мозге крысы *Rattus norvegicus*, используя разработанный и успешно апробированный в нашей лаборатории метод протеомного скрининга PSIA-LC-MALDI [1]. Одним из белков, выявленных в результате скрининга, является Munc18-1 - жизненно-важный цитоплазматический белок, участвующий в секреции нейромедиаторов. В данной работе мы изучили амилоидные свойства белка Munc18-1 в мозге крысы и в бактериальной системе продукции внеклеточных амилоидов C-DAG. Используя методы PAGE и SDD-AGE с последующим Вестерн-блоттингом, мы показали, что в мозге крысы присутствуют детергент-устойчивые высокомолекулярные агрегаты белка Munc18-1.

Биоинформатический анализ аминокислотной последовательности белка Munc18-1 выявил три потенциально амилоидогенных участка в С-концевой области белка.

Используя бактериальную систему C-DAG [2], мы показали образование фибрилл полноразмерного белка Munc18-1, а также его С-терминального фрагмента. Колонии бактерий, продуцирующих эти фибриллы на среде содержащей Конго Красный, демонстрировали яблочно-зеленое свечение в поляризованном свете, что является характеристикой амилоидов. Полученные результаты дают основания полагать, что Munc18-1 может находиться в мозге крысы *Rattus norvegicus* в амилоидной форме.

**Благодарности:** работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-50-00069 и РФФИ мол\_а №18-34-00419, ресурсных центров «ЦКП ХРОМАС» и «РМиКТ» научного парка СПбГУ.

[1]. Antonets K.S., Volkov K.V., Maltseva A.L., Arshakian L.M., Galkin A.P., Nizhnikov A.A., Proteomic analysis of *Escherichia coli* protein fractions resistant to solubilization by ionic detergents. // 2016, Biochem., V.81, N.1, P34–46.

[2]. Sivanathan V., Hochschild A., A bacterial export system for generating extracellular amyloid aggregates. // 2013, Nat. Protoc., V.8, N.7, P.1381–1390.

## ПОИСК И ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ АМИЛОИДНЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА

Москаленко С.Е.<sup>1,2</sup>, Сергеева О.С.<sup>2</sup>, Бондарев С.А.<sup>2</sup>, Журавлева Г.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Санкт-Петербург, 199034 Университетская наб. 7/9;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, 199034 Университетская наб. 7/9.

[s.moskalenko@spbu.ru](mailto:s.moskalenko@spbu.ru)

Поиск новых амилоидных белков представляет собой одну из важнейших задач современной биомедицины. Ряд серьезных заболеваний человека и животных, таких как болезни Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона, боковой амиотрофический склероз, диабет II типа (всего около 50 заболеваний), связан с амилоидами и прионами. В данной работе в качестве белков интереса были выбраны пять белков человека, для которых, согласно базе данных BioGRID, было показано взаимодействие с предшественником бета-амилоида: ALS2CR8, CHGB, NOS1AP, PPP1R10 и ZFYVE16. Анализ последовательностей данных белков на склонность к формированию  $\beta$ -арок при помощи программ ArchCandy предсказал наличие амилоидогенных областей, приходящихся на неструктурированные участки, которые были обнаружены с помощью программы IUPred [1].

Для доказательства образования амилоидов необходимо использовать различные подходы, основанные на типичных свойствах амилоидных фибрилл: (1) связывание ряда красителей, в частности Конго Красного, что в поляризованном свете демонстрирует зелёное двойное лучепреломление; (2) устойчивость к протеазам и обработке высокими концентрациями детергентов при комнатной температуре; (3) агрегация белков *in vivo*, которую можно выявить по образованию чётких фокусов флуоресценции при анализе слитых с GFP амилоид-образующих белков на флуоресцентном микроскопе.

Целью данной работы являлась проверка амилоидных свойств белков интереса биохимическими методами, методами микроскопии и с использованием бактериальной системы C-DAG [2]. На основании полученных данных, были отобраны потенциальные амилоидные белки человека. Для получения экспрессионных векторов, содержащих гены *ALS2CR8*, *CHGB*, *NOS1AP*, *PPP1R10* и *ZFYVE16*, слитые с *csgA<sub>SS</sub>* или с *GFP*, была использована технология Gateway. С помощью метода SDD-AGE мы показали, что белки CHGB, NOS1AP и PPP1R10 способны формировать агрегаты, устойчивые к SDS. Также данные белки, сшитые с GFP, формировали фокусы флуоресценции. В системе C-DAG гибридные белки CsgAss-CHGB и CsgAss-NOS1AP приводили к возникновению клеточных скоплений, демонстрирующих двойное лучепреломление в поляризованном свете. Более подробно будут рассмотрены доказательства амилоидных свойств белка NOS1AP.

[1] Dosztányi Z. Prediction of protein disorder based on IUPred. // 2017; Protein Science, V. 27. P. 331-340.

[2] Sivanathan V & Hochschild A. A bacterial export system for generating extracellular amyloid aggregates. // 2013, Nat. Protoc., V.8. P.1381–1390.

**Благодарности:** работа поддержана грантом РФФИ №17-74-10159; гостема № 0112-2016-0015 «Выявление патологических и функциональных амилоидов у эукариот».

## ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ *GIC1* И *GIC2* ВЛИЯЕТ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ НА ФОНЕ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *SUP35* И *SUP45* У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*.

Рогоза Т.М.<sup>1,2</sup>, Москаленко С.Е.<sup>1,2</sup>, Землянко О.М.<sup>2</sup>, Матвеев А.Г.<sup>2</sup>, Барбитов Ю.А.<sup>2</sup>,  
Бондарев С.А.<sup>2</sup>, Журавлева Г.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики  
им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Санкт-Петербург, 199034  
Университетская наб. 7/9;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, каф. генетики и биотехнологии,  
Россия, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб. 7/9

[rogoza\\_tm@mail.ru](mailto:rogoza_tm@mail.ru)

Трансляция является завершающим этапом реализации генетической информации в клетках живых существ. Основными компонентами терминации трансляции у эукариот являются два фактора: eRF1, распознающий стоп-кодона, и eRF3, являющийся ГТФазой. У дрожжей факторы терминации кодируются генами *SUP45* и *SUP35*, соответственно.

eRF1 и eRF3 взаимодействуют с большим количеством белков, не являющихся компонентами аппарата трансляции, что оказывает влияние как на эффективность трансляции, так и на дополнительные функции факторов терминации трансляции.

Ранее мы показали взаимодействие белков eRF3 и Gic2 в двугибридной дрожжевой системе. Белок Gic2 и его паралог Gic1 контролируют поляризацию, размер и форму клетки, определяют место образования почки, а также участвуют в регуляции перехода клетки из митоза в стадию G1. Кроме того, белки Gic1 и Gic2 регулируют поляризацию актинового цитоскелета клетки и ориентацию митотического веретена деления. Они являются эффекторами ГТФазы Cdc42, у которой есть консервативная последовательность для связывания с эффекторами. Такая же аминокислотная последовательность есть и в составе белка eRF3, таким образом, можно предположить, что Gic1 и Gic2 влияют на функции eRF3.

Целью нашей работы является изучение роли белков Gic1 и Gic2 в процессе терминации трансляции и взаимосвязи этого процесса с другими клеточными процессами.

Фенотипический анализ нонсенс-супрессии дрожжевых мутантов по генам *SUP35* и *SUP45* на фоне дополнительных копий генов *GIC1* и *GIC2*, показал изменение жизнеспособности клеток и эффективности терминации трансляции для миссенс и нонсенс-мутантов по генам *SUP35* и *SUP45*. Дополнительно анализировали количество полноразмерного Sup35p и Sup45p у изучаемых штаммов. Уровень одного или обоих факторов терминации трансляции варьировал при сверхэкспрессии *GIC1* или *GIC2*. Таким образом, внесение дополнительных копий *GIC1* или *GIC2* изменяет эффективность терминации трансляции у изучаемых штаммов.

Работа поддержана грантами РФФИ 18-14-00050, РФФИ 17-54-150002, а также выполнена в рамках гостемы № 0112-2016-0015

## О РОЛИ *CYDDC* КОМПЛЕКСА В УСТАНОВЛЕНИИ ЦИСТЕИН-ЗАВИСИМОГО РЕДОКС-БАЛАНСА В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*.

Серегина Т<sup>1</sup>., Нагорных М.<sup>1</sup>, Шакулов Р<sup>1</sup>., Миронов А<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Россия, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.

[tatyana.s82@gmail.com](mailto:tatyana.s82@gmail.com)

В настоящее время цистеин считается одним из основных протекторов активных форм кислорода (АФК) в периплазме грамм-отрицательных бактерий. Гены *tcyP*, *tcyJ* и *eamA* кодируют компоненты L-цистеин/L-цистин транспортной системы, которая защищает клетки от воздействия H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в периплазматическом пространстве. В настоящей работе мы показали, что суперэкспрессия *tcyP*, но не *tcyJ*, в клетках *E.coli* приводит к увеличению уровня генерации H<sub>2</sub>S и возникновению гиперчувствительности к H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. С другой стороны, суперэкспрессия гена *eamA* предотвращает продукцию H<sub>2</sub>S и увеличивает устойчивость к H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Предполагается, что наряду с *eamA* в транспорте цистеина из цитоплазмы в периплазму участвуют гены *cydDC*, кодирующие компоненты терминальной оксидазы *bd-I*. В ходе исследований мы неожиданно обнаружили, что суперэкспрессия генов *eamA* и *cydDC* приводит к противоположным эффектам в изменении уровня генерации H<sub>2</sub>S и чувствительности к окислительному стрессу. В отличие от мутанта *P<sub>tet</sub>-eamA*, выделяющего незначительное количество H<sub>2</sub>S, мутант *P<sub>tet</sub>-cydDC* обладает повышенным уровнем генерации сероводорода, из чего можно заключить, что сверхэкспрессия *CydDC* не приводит к уменьшению цитоплазматического пула цистеина. Более того, мы обнаружили, что мутант *P<sub>tet</sub>-cydDC* демонстрирует гиперчувствительность к пероксиду водорода. Суперэкспрессия *eamA* на фоне *P<sub>tet</sub>-cydDC* супрессирует чувствительность к окислительному стрессу. Полученные данные позволяют предположить, что функция комплекса *CydDC* заключается скорее в восстановлении цистина в цистеин в цитоплазме клетки, а не в транспорте цистеина из цитоплазмы в периплазму.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта Российского Научного Фонда 17-74-30030.

## Симпозиум VII: Эволюционная генетика / Symposium VII: Evolutionary Genetics

### ПОЗИТИВНЫЙ ОТБОР В ПОПУЛЯЦИЯХ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM* BV. TRIFOLIИ

Аксенова Т. С. , Онищук О.П., Курчак О.Н., Иголкина А.А., Андронов Е.Е., Проворов Н.А.

ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, Санкт-Петербург, шоссе Подбельского, д. 3, Пушкин, 196608  
[t.aksenova@arriam.ru](mailto:t.aksenova@arriam.ru)

Клубеньковые бактерии вида *Rhizobium leguminosarum*, разделяются на два контрастно различающихся по хозяйской специфичности биотипа: bv. *viciae* (симбионты вики, гороха, чины и чечевицы) и bv. *trifolii* (симбионты клевера). Организация генов Nod-оперона наиболее подробно изучена у *biotina viciae*, штаммы которого существенно варьируют по хозяйской специфичности. Показано, что способность к симбиозу с дикорастущими “афганскими” линиями гороха (*Pisum sativum*) требует наличия гена *nodX* [1]. Ранее ген *nodX* был выявлен и у некоторых штаммов *R. leguminosarum* bv. *trifolii* [2], однако его роль в симбиозе с клевером у этих бактерий остается неясной.

Целью нашей работы являлось выявление и анализ последовательности гена *nodX* у штаммов клевера, выделенных из почв трех регионов, резко различающихся по почвенно-климатическим условиям и встречаемостью разных видов растений-хозяев (северная Карелия, Ленинградская и Тернопольская области). Для этого нами было проведено секвенирование гена *nodX*, а также *nodA*, *nodE*, осуществляющих сходные функции модификации Nod-фактора. У всех изученных 98 штаммов *R. leguminosarum* bv. *trifolii* были выявлены все три *nod*-гена.

Полученные нуклеотидные последовательности были протестированы на наличие движущего отбора с помощью моделей *codeml* программы PAML, основанной на учете синонимичных и несинонимичных замен. Только для *nodX* у штаммов из популяций Ленинградской и Тернопольской области были получены доказательства наличия позитивного отбора. При этом максимальное давление отбора найдено в Тернопольской области, где растения-хозяева наиболее разнообразны, тогда как в северной Карелии, где низкая встречаемость растений-хозяев, отбор отсутствует. Полученные результаты позволяют сделать предположение о важной симбиотической роли *nodX* у ризобий клевера и что фактором отбора этого гена является растение-хозяин.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 18-16-00073)

1. Ma S. W., Iyer V. N. New field isolates of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* that nodulate the primitive pea cultivar Afghanistan in addition to modern cultivars //Appl. Environ. Microbiol. – 1990. – Т. 56. – №. 7. – С. 2206-2212.

2. Ovtsyna A. O. et al. Comparison of characteristics of the *nodX* genes from various *Rhizobium leguminosarum* strains //Molecular plant-microbe interactions. – 1999. – Т. 12. – №. 3. – С. 252-258.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ НОВОГО ВИДА ДРОЖЖЕЙ РОДА *SACCHAROMYCES: S. JUREI*

Боровкова А.Н.<sup>1,2</sup>, Шнырёва А.В.<sup>2</sup>, Наумова Е.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», 1-й Дорожный проезд 1, Москва 117545, Россия; <sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Ленинские горы 1-12, Москва 119234, Россия;  
[al.borovkova\\_93@mail.ru](mailto:al.borovkova_93@mail.ru)

Хорошо известно значение дрожжей-бродильщиков *Saccharomyces cerevisiae* в хлебопечении, виноделии, пивоварении и производстве спирта. Род *Saccharomyces* в настоящее время представлен семью биологическими видами: *S. cerevisiae*, *S. arboricola*, *S. cariocanus*, *S. bayanus*, *S. kudriavzevii*, *S. mikatae* и *S. paradoxus*. Недавно на материале двух штаммов D5088 и D5095, выделенных из коры дуба *Quercus robur* во Франции, описан ещё один новый вид – *S. jurei* [1].

С помощью сравнительного анализа ряда ядерных и митохондриальных генов, а также пульс-электрофореза нативных хромосомных ДНК проведено молекулярно-генетическое изучение нового вида *S. jurei*. Установлено, что *S. jurei* имеет идентичные нуклеотидные последовательности гена 18S рРНК с видами *S. kudriavzevii/S. mikatae* и отличается одной нуклеотидной заменой от *S. cerevisiae/S. paradoxus* и *S. bayanus*, а также двумя заменами от *S. arboricola* и *S. cariocanus*. Различия по последовательностям домена D1/D2 26S рДНК составили 1–2 нуклеотида с *S. paradoxus*, *S. cariocanus* и *S. kudriavzevii*, а также 5–7 нуклеотидов с остальными видами *Saccharomyces*. Анализ более варибельного района рРНК (ITS1) выявил от 6 до 18 нуклеотидных замен. Нуклеотидные последовательности ядерного гена *ACT1* также значительно отличаются у разных видов, достигая 31 нуклеотидной замены. При анализе митохондриального гена *ATP9* обнаружены не только межвидовые, но и внутривидовые различия. Наибольшее сходство имеют нуклеотидные последовательности гена *ATP9* дрожжей *S. jurei*, *S. paradoxus*, *S. mikatae* и *S. cerevisiae* (от 2 до 5 замен). Виды *S. cariocanus* и *S. arboricola* отличаются 5-7 нуклеотидами, тогда как у *S. bayanus* и *S. kudriavzevii* обнаружено более 8 нуклеотидных замен. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей ядерных и митохондриальных генов показал, что *S. jurei* филогенетически наиболее близок к *S. mikatae*, тогда как *S. bayanus* и *S. arboricola* являются наиболее дивергентными видами рода *Saccharomyces*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №17-04-00309).

[1]. Naseeb et al., *Saccharomyces jurei* sp. nov., isolation and genetic identification of a novel yeast species from *Quercus robur*. // 2017, Int. J. Syst. Evol. Microbiol., V.67, P.2046-2052.

## GERMLINE RESTRICTED CHROMOSOME AT THE LAMPBRUSH STAGE IN ZEBRA FINCH KARYOTYPE

Volodkina V<sup>1.</sup>, Rubtsov N.<sup>2.</sup>, Zadesenets K<sup>2.</sup>, Saifitdinova A<sup>1.</sup>, Kulak M<sup>1.</sup>, Galkina S<sup>1.</sup>,  
Gaginskaya E.<sup>1</sup>

1 Saint Petersburg State University, Universitetskaya embankment 7/9, Saint Petersburg, Russia; 2  
Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,  
Prospekt Lavrentyeva 10, Novosibirsk, Russia

[leravolo94@gmail.com](mailto:leravolo94@gmail.com)

Zebra finch *Taeniopygia guttata* is an oscine bird from Estrildidae family. Due to its singing ability and behavioral features it is a popular bird for cage keeping and a common model object in biology. These birds have 80 chromosomes in their somatic cells. Whereas germ cells have additive chromosome called germline restricted chromosome (GRC). It is always presented in oocytes and eliminated from male gametes at the stage of spermatocyte 1 formation.

We have identified the lampbrush GRC using GRC specific FISH probe. GRC bivalent is the biggest in the lampbrush karyotype, 20-180  $\mu\text{m}$  long depending on oocyte maturation stage. It has 2-3 chiasmata and lateral loops extending out of chromomeres but no landmark loops. Using antibodies against RNA PolII we have shown transcription on the lateral loops along the whole GRC. The exception is an interstitial massive DAPI-positive region (the so called “belt”) formed on each GRC homolog by merged chromomeres. We also performed an immunocytochemical experiment with antibodies against protein coilin and discovered a quantity of coilin positive spherical bodies, less than 0,5  $\mu\text{m}$  in diameter, attached to the ‘belts’. In order to find out the nature of these unique regions we microdissected them and sequenced their DNA. According to bioinformatic analysis this locus has homology with many autosomes, but most of reads have represented G-rich repeats.

The role of GRC in zebra finch genome is still unknown. Apart from cytogenetic study, the deciphering of nucleotide sequences of this unique chromosome is a quite promising approach to identify its function.

Technical and financial support: Chromas Research Resource Center and Financial Program 4 of Saint Petersburg State University (#1.40.1625.2017).

## ОСОБЕННОСТИ НОВОГО БЕЛКА АСЦИДИИ *Styela rustica*, РУСТИКАЛИНА, ДЕМОНИСТРИРУЮТ ГОРИЗОНТАЛЬНУЮ ПЕРЕНОС ЕГО ГЕНА.

Даугавет М.А.<sup>1</sup>, Шабельников С.В.<sup>1</sup>, Шапошникова Т.Г.<sup>3</sup>, Адонин Л.С.<sup>1</sup>, Подгорная О.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт Цитологии РАН, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр. 4;

<sup>3</sup>СПбГУ, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная 7-9

[kabtank@yandex.ru](mailto:kabtank@yandex.ru)

Обмен генетическим материалом между неродственными организмами называют горизонтальным переносом генов (ГПГ). Один из примеров ГПГ из генома прокариот в геном животных описан для Оболочников (Tunicata). Показано, что ген целлюлозосинтазы Оболочников имеет бактериальное происхождение, и его донором считается бактерия *Streptomyces* sp. В нашей работе был описан новый белок представителя Оболочников, асцидии *Styela rustica*, и представлены свидетельства горизонтального переноса его гена.

Последовательность нового белка, рустикалина, была проанализирована *in silico*. Схожие последовательности в базах данных обнаружены для представителей Placozoa, кораллов и низших хордовых. В структуре рустикалина и предполагаемых гомологов предсказано присутствие двух структурных доменов: N-концевого домена и C-концевого домена. Последовательность N-концевого домена напоминает ингибитор карбоксипептидазы, тогда как последовательность C-концевого домена демонстрирует сходство с ферментом карбоксипептидазой. Максимальное сходство C-концевого домена наблюдается с прокариотическими белками: карбоксипептидазами бактерий, а так же с L-аланил-D-глутамат-пептидазой бактериофага A500. В то же время нами показано, что ген гомолога рустикалина у асцидии *Ciona intestinalis* содержит последовательность, схожую с сайтом встраивания бактериофага A500. На основании этих данных можно сделать вывод, что нуклеотидная последовательность C-концевого домена рустикалина имеет бактериальное происхождение и могла быть перенесена в геном асцидий бактериофагом.

Для анализа второго случая ГПГ у Оболочников мы рассмотрели геном бактерии *Streptomyces* sp., вероятного донора фермента целлюлозосинтазы. Ген каталитической субъединицы целлюлозосинтазы в этом геноме находится рядом с последовательностью, схожей с сайтом встраивания бактериофага A500. Можно предполагать, что встраивание и вырезание бактериофага могло послужить причиной переноса гена каталитической субъединицы целлюлозосинтазы в геном Оболочников. Таким образом, по крайней мере, для двух случаев ГПГ в геном Оболочников можно предложить единый механизм, основанный на встраивании бактериофага.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Гранта РФФИ (15-04-06008)-а и программы президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» (01.2.01457147).

## ДЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ВВЕДЕНИЯ ОКСИТОЦИНА И ИНГИБИТОРА РЕЦЕПТОРА ОКСИТОЦИНА В АДОЛЕСЦЕНТНЫЙ ПЕРИОД НА РЕАКЦИЮ ВЗДРАГИВАНИЯ И ПРЕСТИМУЛЬНОЕ ТОРМОЖЕНИЕ У КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВЕКТОРА ОТБОРА ПО ПОВЕДЕНИЮ

Кожемякина Р.В., Шихевич С.Г., Гулевич Р.Г.

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики, Россия, Новосибирск, 630090, пр. Лаврентьева 10

[korimma@gmail.com](mailto:korimma@gmail.com)

Известно, что нейропептид окситоцин влияет на разные виды социо-эмоционального поведения, а также на реакцию вздрагивания и ее престаимульное торможение [1]. Реакция вздрагивания на неожиданный раздражитель отражает состояние страха и/или тревожности [2], а престаимульное торможение заключается в уменьшении реакции вздрагивания, когда сигналу раздражителя предшествует более слабый сигнал [3], что является важной функцией мозга, связанной с фильтрацией окружающей информации [1]. Целью данной работы было исследование влияния введения окситоцина и ингибитора рецептора окситоцина в подростковый период на реакцию вздрагивания и престаимульное торможение у серых крыс, селекционируемых на ручное и агрессивное поведение по отношению к человеку.

Окситоцин (20 мкл с концентрацией 1 мкг/ мкл) или физ. раствор вводили самцам крыс ежедневно методом назальных аппликаций в течение 5 дней с 28 по 32 дни жизни, последующие тесты на реакцию вздрагивания проводили в возрасте 50 дней. Антагонист рецептора окситоцина (L-368,899, 5 мг/кг) вводили i.p. однократно с 30 по 33 день жизни, последующие тесты на реакцию вздрагивания и престаимульное торможение (PPI) проводили через 20 дней в возрасте 50-53 дней на установке TSE Startle Response System. Основной звуковой стимул был 115 дБ, а подпороговые престаимулы - 85, 75 и 70 дБ.

Амплитуда вздрагивания у агрессивных самцов в первой серии стимулов в интактной группе и после введения физ. раствора, а также во второй серии стимулов в интактной группе была больше, чем у соответствующих ручных животных ( $P < 0.001$  в первой серии и  $P < 0.05$  во второй серии стимулов). Только у агрессивных крыс аппликации окситоцина вызывали понижение амплитуды вздрагивания относительно интактных ( $P < 0.05$ ) и получавших физ. раствор крыс ( $P = 0.06$ ). В связи с этим различия по амплитуде вздрагивания между ручными и агрессивными крысами сглаживались.

Инъекции антагониста рецептора окситоцина существенно не влияли на амплитуду вздрагивания у агрессивных и ручных крыс. После введения физ. раствора ручные самцы уступали агрессивным по проценту престаимульного торможения (PPI) в случае подпороговых престаимулов силой 70 и 85 дБ. Инъекции антагониста ингибитора рецептора окситоцина вызывали понижение PPI у агрессивных крыс на уровне тенденции ( $P = 0.07$ ) и не влияли на этот параметр у ручных животных. Полученные данные свидетельствуют, что введение окситоцина и антагониста его рецепторов влияют на реакцию вздрагивания и престаимульное торможение только у агрессивных, но не ручных крыс.

[1] Feifel D. et al., The Effects of Oxytocin and its Analog, Carbetocin, on Genetic Deficits in Sensorimotor Gating. // 2012, Eur Neuropsychopharmacol., V.22, P.374-378.

[2] Koch M., The neurobiology of startle. // 1999, Prog Neurobiol., V.59, P.107-128.

[3] Swerdlow N.R. & Geyer M.A., Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. // 1998, Schizophr Bull., V.24, P. 285-301.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-00637.

## ПОСТРОЕНИЕ ЭВОЛЮЦИОННОЙ МОДЕЛИ АЛЛОПОЛИПЛОИДИЗАЦИИ *TH. PONTICUM* НА ОСНОВЕ ИЗУЧЕНИЯ ЕГО РЕПИТОМА

Кузнецова В.М.<sup>1,2</sup>, Крупин П.Ю.<sup>1,2</sup>, Дивашук М.Г.<sup>1,2</sup>, Карлов Г.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева,

Россия, Москва, 127550 Тимирязевская ул., 49

<sup>2</sup>ФГБНУ ВНИИСБ, Россия, Москва, 127550 Тимирязевская ул., 42

[vika-kuz367@yandex.ru](mailto:vika-kuz367@yandex.ru)

Пырей понтийский *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth & D.R. Dewey ( $2n = 10x = 70$ ) является аллополиплоидом, который сочетает в себе пять субгеномов различного происхождения (EeEbExStSt или JJJJsJs). В качестве наиболее вероятных доноров его субгеномов рассматриваются *Th. elongatum* (Ee), *Th. bessarabicum* (Eb), *Ps. strigosa* (St) (Liu, 2018). Изучение происхождения такого сложного аллополиплоида важно как для понимания общих закономерностей эволюции злаков, так и для более успешной интрогрессии ценных пырейных генов в геном мягкой пшеницы (Kocheshkova, 2017).

Одним из надёжных способов установления отношений между субгеномами у аллополиплоидов и установления их происхождения является изучение повторяющейся ДНК, или репитома (Divashuk 2016, Li 2018). Нами было использовано два подхода для анализа репитома: 1) молекулярно-цитогенетический анализ и 2) анализ на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ).

Для молекулярно-цитогенетического анализа нами были использованы двенадцать выявленных нами и пять ранее известных повторов, взятые в качестве проб при проведении флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). Выявленные нами повторы различались по характеру распределения и копийности между разными хромосомами пырея понтийского. На основе сравнения FISH-паттерна на хромосомах пырея понтийского и его близкого сородича пырея среднего нами установлено, что *Th. ponticum* имеет лишь один общий геном с пыреем средним.

С помощью ПЦР-РВ нами была установлена копийность LTR-ретротранспозонов семейства *Gypsy* и *Coria*, а также нескольких неLTR-ретротранспозонов и ДНК-транспозонов. В результате сравнения копийности у пырея понтийского с его предполагаемыми донорами установлено, что субгеномы пырея имеют сложную природу, а ретроэлемент *Geneva* прошёл через массовую амплификацию в ходе эволюции пырея понтийского.

Полученные данные позволяют предполагать, что субгеномы *Th. ponticum* не идентичны друг другу и, даже если имеют общее происхождение, подверглись существенным изменениям репитома в ходе видообразования.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-76-00035.

[1]. Liu L., Luo Q., Teng W., Li B., Li H., Li Y., Li Z., Zheng Q. Development of *Thinopyrum ponticum*-specific molecular markers and FISH probes based on SLAF-seq technology // 2018, *Planta*, 247(5), P. 1099-1108.

[2]. Kocheshkova A.A., Kroupin P.Y., Bazhenov M.S., Karlov G.I., Pochtovyy A.A., Divashuk M.G., Upelnik V.P., Belov V.I. Pre-harvest sprouting resistance and haplotype variation of thvp-1 gene in the collection of wheat-wheatgrass hybrids // 2017, *PLoS ONE*, 12(11), e0188049.

[3]. Divashuk M.G., Khuat T.M. L., Kroupin P.Yu., Kirov I.V., Romanov D.V., Kiseleva A.V., Khurstaleva L.I., Alexeev D.G., Zelenin A.S., Klimushina M.V., Razumova O.V., Karlov G.I. Variation in copy number of Ty3/gypsy centromeric retrotransposons in the genomes of *Thinopyrum intermedium* and its diploid progenitors // 2016, *PLoS ONE*, 11(4), e0154241.

## СТРУКТУРА ГЕНОФОНДА И ВЫЯВЛЕНИЕ ФАКТОРА ОТБОРА В ПОПУЛЯЦИЯХ ВОЛГО-УРАЛЬСКОГО РЕГИОНА ПО ДАННЫМ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ (NGS)

Лукьянова Е.Н.<sup>1</sup>, Балановская Е.В.<sup>2</sup>, Балановский О.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук

<sup>2</sup> ФГБНУ Медико-генетический научный центр

[lukianovaelena@yandex.ru](mailto:lukianovaelena@yandex.ru)

Генофонд Волго-Уральского региона складывался в результате как мощных миграционных потоков между западной и восточной Евразией, так и длительных процессов независимой микроэволюции, создавших возможные условия для формирования «третьей расы» - уральской. Сложный клубок взаимодействий и смены ведущих факторов микроэволюции привел к тому, что несмотря на пристальное внимание генетиков, генетическая история этого региона остается нерасшифрованной, и большие надежды возлагаются на технологии секвенирования нового поколения (NGS).

Проведено полноэкзомное секвенирование нового поколения (NGS) для широкого круга популяций Волго-Уральского региона: башкир (северо-западных и юго-восточных), казанских татар, мишарей, мордвы-мокша, мордвы-эрзя, удмуртов, чувашей. В качестве «аут-групп» в сравнительный анализ включены популяции пяти регионов Северной Евразии: Восточной Европы (карелы, центральные русские популяции), Кавказа (адыгейцы), Центральной Азии (горные и равнинные таджики), Сибири (буряты), Дальнего Востока (нанайцы, нивхи).

Анализ полных экзотов 167 индивидов методами главных компонент и IBD (Identity-By-Descent) выявил шесть основных кластеров, причем три включили популяции Волго-Уральского региона: кластер популяций Поволжья, Западно-Уральский кластер и Восточно-Уральский. Изученные популяции расположились в этих кластерах в соответствии с их географическим положением за исключением чувашей, которые вместо Поволжского кластера вошли в Западно-Уральский.

Методами анализа фактора естественного отбора (FineMAV и Population Branch Statistics) выявлены достоверные отличия среди ряда вариантов, частота которых значимо варьирует среди изученных популяций Северной Евразии. Положительный отбор выявлен для ряда генов, ассоциированных с признаками внешности (цвет волос, глаз и кожи) – *SLC45A2*, *SLC24A5*, *HERC2*, *MC1R*, для гена *EDAR*, ответственного за структуру волос, и широко известного варианта в гене *CPT1A*, обуславливающего приспособленность организма к воздействию низких температур, а также для генов, ассоциированных с такими медицинскими состояниями как кровяное давление (MAP4).

**Благодарности:** работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-04-00890

## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ БЕТА-ГАЛАКТОЗИДАЗНЫХ ГЕНОВ *LAC4* ДРОЖЖЕЙ *KLUYVEROMYCES LACTIS*

Лютова Л.В.<sup>1,2</sup>, Шнырёва А.В.<sup>1</sup>, Наумова Е.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, НИЦ «Курчатовский институт», Россия, г. Москва, 1-й Дорожный проезд, д.1; <sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Ленинские горы, д.1

[mila.lambert@mail.ru](mailto:mila.lambert@mail.ru)

Фермент бета-галактозидаза (лактаза) широко распространен в тканях растений и животных, однако крайне редко встречается у дрожжей. У молочных дрожжей *Kluyveromyces lactis*, способность ферментировать лактозу контролируется полимерными локусами *LAC1* (хромосома III), *LAC2* (хр. II) и *LAC3* (хр. IV), каждый из которых включает два тесно сцепленных структурных гена *LAC4* (бета-галактозидаза) и *LAC12* (пермеаза лактозы), а также регуляторную последовательность [1-3].

С помощью молекулярного кариотипирования и Саузерн-гибридизации с зондом *LAC4* изучены молекулярно-генетические особенности 33 штаммов *K. lactis* различного экологического и географического происхождения. Штаммы изолированы в различных регионах Европы, США, Новой Зеландии и России из молочных продуктов, почвы и клинических источников (мокрота, кишечник). Изученные штаммы характеризуются сходными молекулярными кариотипами с шестью хромосомными полосами. Отмечен некоторый полиморфизм размеров хромосом II и III. Гибридизация с зондом *LAC4* выявила наличие локуса *LAC1* у семи штаммов, *LAC2* у 19 штаммов и *LAC3* у четырех штаммов. Большинство молочных штаммов обладали локусом *LAC2*. У трёх штаммов обнаружены полимерные локусы *LAC1/LAC2* (УСМ Y-328, ВКПМ Y-492) и *LAC1/LAC3* (ВКМ Y-1868). Нами не отмечена корреляция между географическим происхождением штаммов и наличием определённых локусов *LAC*. Филогенетический анализ выявил значительные различия между белками *LAC4* дрожжей *K. lactis* и соответствующими белками дрожжей *Scheffersomyces*, *Sugiyamaella*, *Debaryomyces*. Обсуждается эволюция бета-галактозидазных генов *LAC* аскомицетовых дрожжей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке совместного российско-тайваньского гранта РФФИ (№ 18-54-52002-МНТ).

[1]. Fairhead C, Dujon B. Structure of *Kluyveromyces lactis* subtelomeres: duplications and gene content. // 2006, FEMS Yeast Res V.6, P.428 – 441.

[2]. Наумов Г.И., Обнаружение суперсемейств лактозных генов *LAC* у дрожжей *Kluyveromyces*. // 2008, ДАН, Т.420(6), С.832– 834.

[3]. Наумов Г.И., Наумова Е.С., Полимерные гены ферментации лактозы у дрожжей *Kluyveromyces lactis*: новый локус *LAC3*. // 2014, ДАН, Т.455(3), С.363– 365.

## ДЕТСКИЕ САДЫ И РЕПРОДУКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ АНАДРОМНОЙ И ЖИЛОЙ ФОРМ ТРЕХИГЛОЙ КОЛЮШКИ БЕЛОГО МОРЯ В ЗОНЕ СИМПАТРИИ.

Мюге Л.Н., Барминцева А.Е., Мюге Н.С.

Москва, Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова (ИБР РАН)

Москва, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО)

[MugueLubov@gmail.com](mailto:MugueLubov@gmail.com)

Трехиглая колюшка *Gasterosteus aculeatus* L. – небольшая рыба, обитающая в морях северного полушария. В отличие от других рыб, в заботе о потомстве участвует только самец, который строит гнездо, а затем охраняет кладки икры и вылупившихся мальков. В Кандалакшском заливе Белого моря есть много молодых озер, которые образовались за счет постледникового изостатического поднятия береговой линии, продолжающееся по настоящее время со скоростью примерно 0,5 см/год. Многие озера еще соединены с морем протокой, и анадромная колюшка из моря приходит нереститься в них. После нереста анадромная форма уходит обратно в море, а часть колюшки может оставаться в озере, где образует резидентную форму, которая адаптирована к обитанию в пресноводных водоемах.

Нами проанализировано 17 гнезд (самец+ потомство) трехиглой колюшки из молодых озер Ершовского (66,535°N, 33,076°E) и Хусломено (66,721°N, 32,853°E) Кандалакшского залива Белого моря. Сбор материала проводился в 2011, 2014, 2016, 2017 и 2018 гг. Пять гнезд были на стадии развивающейся икры и 18 - на стадии мальков, держащихся около гнезда и охраняемых самцом в брачном окрасе.

Проанализировано 505 особей трехиглой колюшки по трем типам маркеров. 17 самцов, 122 эмбриона и 366 мальков. Самцы были проанализированы по 6 микросателлитным локусам и по 8 DI-специфичным (DI-геномные островки дивергенции, Terekhanova et al. 2014) локусам. Все мальки (потомство) проанализированы по тем же локусам, а так же был проведен анализ контрольного региона мтДНК для выявления потомков каждой из участвовавших в размножении самок.

Микросателлитный анализ выявил, что в 4 гнездах с икрой все потомство принадлежит самцу-хозяину, но есть одно гнездо, содержащие потомство (личинки) двух (или более) самцов. Однако практически все гнезда, в которых находились уже вылупившиеся мальки (самец охраняет мальков в течение двух недель после вылупления), содержали потомство не только этого самца. Среднее количество приемных мальков в гнезде составляло 30,5%. Эти данные доказывают, что у трехиглой колюшки формируются «детские сады», когда самец охраняет не только своих потомков, но и мальков этого вида из других гнезд.

Исследование DI-специфичных маркеров в самце и в группах мальков, принадлежащих одной самке, позволило определить принадлежность самца и самки для каждой родительской пары к определенной экологической форме – жилой (резидентной) или анадромной популяции колюшки. Выявлено, что анадромные самцы образуют пары как с анадромными, так и с резидентными самками, а резидентные самцы достоверно предпочитают резидентных самок. Полученные данные свидетельствуют о возникновении частичной репродуктивной изоляции при формировании резидентных форм в молодых озерах побережья Белого моря.

## АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА SNP-МАРКЕРОВ ГЕНОВ НЕСОКРАТИТЕЛЬНОГО ТЕРМОГЕНЕЗА *UCP1* (rs1800592), *UCP2* (rs659366) И *UCP3* (rs2075577) У ЯКУТОВ И ЧУКЧЕЙ

Никанорова А.А.<sup>1,2</sup>, Барашков Н.А.<sup>1,2</sup>, Дьяконов Е.Е.<sup>2</sup>, Находкин С.С.<sup>2</sup>, Пшенникова В.Г.<sup>1,2</sup>, Соловьев А.В.<sup>1,2</sup>, Кузьмина С.С.<sup>2</sup>, Томский М.И.<sup>1</sup>, Бурцева Т.Е.<sup>1,2</sup>, Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Россия, г.Якутск, Сергеляхское шоссе, 4;

<sup>2</sup>Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Россия, г.Якутск, ул. Кулаковского, 46.

[nikanorova.alena@mail.ru](mailto:nikanorova.alena@mail.ru)

Впервые был проведен анализ частот аллелей полиморфизма генов *UCP1*-rs1800592, *UCP2*-rs659366 и *UCP3*-rs2075577 в популяциях якутов и чукчей, проживающих в экстремальных климатических условиях Восточной Сибири. Выборка якутов (YAK) составила 281 человек и была подразделена на три группы: северные (N.YAK, n=16), вилкойские (V.YAK, n=67) и центральные якуты (С.YAK, n=198). Выборка чукчей (CHU) составила 39 человек. Из открытых источников «1000 Genomes» была получена информация о частотах изучаемых полиморфизмов для популяций китайцев – CHB (n=103), CHS (n=108), CDX (n=99), японцев – JPT (n=104), вьетнамцев – KHV (n=101). Генотипирование выполнялось методом ПЦР-ПДРФ анализа. Популяции, проживающие в субарктическом (CHU, N.YAK) и на границе умеренного и субарктического климата (V.YAK; С.YAK) были объединены в группу «Север Азии». Популяции, проживающие в умеренном (CHB), субтропическом (JPT; CHS; CDX) и субэкваториальном климате (KHV) были объединены в группу «Юг Азии». Сравнительный анализ показал, что частота аллеля А rs1800592 (*UCP1*) в группе «Север Азии» (61,8%, ДИ:56,8-66,7%), статистически не отличалась ( $p>0,01$ ) от группы «Юг Азии» (53,4%, ДИ:49,4-57,4%). Частоты аллеля Т rs659366 (*UCP2*) в группе «Север Азии» (49,5%, ДИ:44,5-54,6%), по сравнению с группой «Юг Азии» (41,5%, ДИ:37,7-45,5%), также статистически не отличалась ( $p>0,01$ ). Обнаружено, что частота аллеля А rs2075577 (*UCP3*) в группе «Север Азии» (66,7%, ДИ:61,8-71,4%) была достоверно выше по сравнению с группой «Юг Азии» (42,3%, ДИ:38,4-46,3%) ( $p<0,01$ ). Таким образом, полученные результаты о повышенной частоте аллеля А полиморфизма rs2075577 гена *UCP3* у якутов и чукчей, проживающих в условиях низких температур, по сравнению с более южными популяциями Азии, могут быть связаны с такими факторами популяционной динамики как генетический дрейф и эффект основателя [1], или же могут свидетельствовать о наличии адаптационных механизмов, связанных с генами несократительного термогенеза, направленных на повышение холодоустойчивости.

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки РФ №6.1766.2017/ПЧ, программы биоресурсных коллекций ФАНО России УНУ «Геном Якутии» ЯНЦ КМП (БРК: 0556-2017-0003) и при финансовой поддержке РФФИ (18-05-600035\_Арктика, 18-34-00439 мол\_а).

### Литературные источники:

1. Fedorova S.A. Autosomal and uniparental portraits of the native populations of Sakha (Yakutia): implications for the peopling of Northeast Eurasia // 2013, BMC Evol Biol. –Т. 13. – №. 1. – P.127.

## АССОЦИИРОВАННЫЙ С ПОЛОМ УЧАСТОК ГЕНОМА ТОПОЛЯ

Пушкова Е.Н., Борхерт Е.В., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А.

ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Россия, Москва, ул. Вавилова, д. 32

[pushkova18@gmail.com](mailto:pushkova18@gmail.com)

Род *Populus* (Тополь) включает двудомные виды и является модельным объектом для изучения полового диморфизма деревьев. Работы по поиску области генома, ответственной за определение пола, позволили выявить ассоциированные с полом однонуклеотидные полиморфизмы, локализованные на участках генома общей протяженностью около 100 т.п.н., однако существующая на данный момент версия сборки генома тополя не позволяет точно определить их взаимное расположение, идентифицировать границы полового локуса и входящие в него структурные элементы. На решение этих задач направлена наша работа. Собраны образцы 20 мужских и 20 женских деревьев тополя (*Populus x sibirica*), растущих на территории Москвы. Проведена пробоподготовка для глубокого секвенирования участков генома тополя, ассоциированных с полом, в которых локализованы гены *MET1* и *ARR17*. Секвенирование выполнено на MiSeq (Illumina) с длиной прочтения по 300 нуклеотидов с двух сторон, и для каждого образца в среднем получено 4000-кратное покрытие. В каждом образце тополя идентифицировано от 80 до 179 однонуклеотидных полиморфизмов в гене *MET1* и от 16 до 49 в гене *ARR17*. Выявлено, что полоспецифичными являются 17 однонуклеотидных полиморфизмов, 11 из которых локализованы в *MET1*, а 6 – в *ARR17*. По данным секвенирования в сайтах генома, в которых расположены эти полиморфизмы, мужские тополя имели два варианта нуклеотидов в соотношении близком к 50/50, а женские – только один вариант. Таким образом, мужские растения тополя являются гетерозиготными, а женские – гомозиготными по полоспецифичным полиморфизмам. Четыре растения тополя (2 мужских и 2 женских) выбраны для полногеномного секвенирования, которое проведено на платформе Illumina для получения высокоточных, но коротких прочтений, и на платформе Nanopore для получения длинных прочтений. Совместное использование этих двух платформ позволяет получить высококачественную сборку генома, которая необходима для установления расположения и границ полового локуса, определения последовательностей генов и межгенных участков, входящих в него, и проведения поиска ассоциированных с полом полиморфизмов как на основе собственных данных секвенирования, так и геномных данных из общедоступных баз. Анализ полученных результатов приближает нас к установлению механизмов детерминации пола тополя.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-20113 мол\_а\_вед.

## ЭВОЛЮЦИОННО - ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РОЛИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ ГЕНОВ ПЛАЦЕНТЫ В ФОРМИРОВАНИИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К ПРЕЭКЛАМПСИИ

Сереброва В.Н.<sup>1</sup>, Трифонова Е.А.<sup>1,2</sup>, Степанов В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Россия, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2.

[vika.serebrova@medgenetics.ru](mailto:vika.serebrova@medgenetics.ru)

В настоящее время широкое распространение приобретает использование подходов эволюционной биологии в изучении различных аспектов многофакторных заболеваний, включая и анализ их генетической архитектуры. В представленной работе такой подход впервые применен к анализу формирования структуры наследственной подверженности к преэклампсии (ПЭ). В исследование включены наиболее значимые дифференциально экспрессирующиеся гены (ДЭГ), впервые выявленные благодаря анализу транскриптома плацентарной ткани при ПЭ и физиологическом течении беременности, и их регуляторные однонуклеотидные полиморфные варианты (rSNP), которые путем изменения уровня экспрессии кандидатных генов могут играть значимую роль в развитии различных патологических состояний.

Ассоциативный анализ 46 rSNP 21 ДЭГ, с развитием ПЭ проводился в этнических выборках русских и якутов. Суммарный объем выборки составил 925 женщин, разделенных на группу с ПЭ (русские, N=195 и якуты, N=217) и контрольную группу (русские, N=303 и якуты, N=210). Генотипирование осуществляли методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Поиск сигналов естественного отбора по 46 ДЭГ проводили с использованием теста dN/dS в ряду шести представителей отряда Primates и по изученным rSNP с использованием метода INSIGHT в ряду трех представителей парвотряда Catarrhini.

В работе продемонстрирована ассоциация с развитием ПЭ для 10 rSNP 8 ДЭГ: rs10985257 гена *CORO2A*, rs72959687 гена *INHA*, rs2167270 гена *LEP*, rs10423795 гена *LHB*, rs56153523 и rs8109071 гена *SYDE1*, rs1671215 гена *RDH13* в этнической выборке русских и rs34845949 гена *SASH1*, rs2227262 и rs3802252 гена *NDRG1* в этнической выборке якутов. Сигналы действия слабого очищающего отбора показаны для 4 ассоциированных с ПЭ rSNP 4 ДЭГ (*CORO2A*, *INHA*, *NDRG1*, *SASH1*). Кроме того, для большинства изученных генов-ортологов шести представителей отряда Primates и человека характерно сохранение структуры белка вследствие действия очищающего отбора. Не было выявлено действие сильного очищающего и положительного отбора. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о значимой роли rSNP генов, дифференциальная экспрессия которых показана при анализе транскриптома плацентарной ткани, а также их адаптивных изменений на макроэволюционном уровне в формировании наследственной подверженности к ПЭ в популяциях различного этнического происхождения.

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-29-13045, проект № 19-04-01137).

## ЭКСПРЕССИЯ ВЫСОКОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА *Dras1*

Сивопляс Е.А.<sup>1</sup>, Максимчук М.Д.<sup>1</sup>, Белкина Е.Г.<sup>2</sup>, Лазебный О.Е.<sup>2</sup>, Куликов А.М.<sup>2</sup>

1 - Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский педагогический государственный университет» (МПГУ), Россия, Москва, ул. Малая Пироговская, дом 1, строение 1 ;

2 - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН), Россия, Москва, ул. Вавилова, 26, стр. 1  
[sivoplyas-ekater@mail.ru](mailto:sivoplyas-ekater@mail.ru)

Критические периоды в эволюционной истории популяции, вызванные резкими изменениями окружающей среды и сопровождающиеся физиологическим и геномным стрессом, часто соответствуют точкам бифуркации на филогенетическом древе видов. Гены *Ras* — семейство консервативных генов, кодирующих белки, относящихся к малым G-белкам (малые ГТФазы), играющих роль «молекулярных переключателей». Мутации в этом гене часто приводят к канцерогенезу. Высококонсервативный ген *Dras1* экспрессируется у всех эукариот от дрожжей до человека. Консервативная последовательность гена *Dras1* является ортологом человеческих протоонкогенов *H-ras*, *K-ras* и *N-ras* и кодирует белок Ras1. Мутация в таких генах приводит к канцерогенезу. Ras1 относят к универсальным переключателям пролиферативной активности. Он передает сигнал от рецепторов к фосфотрансферазам, запускающих каскадную реакцию, которая в свою очередь приводит к делению клетки. Биосинтез данного белка осуществляется в течение всей жизни у эукариот, а степень экспрессии зависит от регулирующих механизмов.

Сейчас активно изучается посттранскрипционная регуляция при участии микроРНК (miRNA). Эти короткие нуклеотидные последовательности длиной 18-25 п.о. комплементарно связываются с мРНК в 3'-нетранслируемом районе и тем самым прекращают трансляцию. Количество разновидностей микроРНК у высших организмов ещё до конца не установлено — по некоторым данным, оно превосходит 1% от числа белок-кодирующих генов. В нашем эксперименте последовательность микроРНК связывается с матричной РНК гена *Dras1*, препятствуя началу синтеза белка на рибосоме.

С помощью биоинформационного анализа в последовательности гена *Dras1* были определены сайты связывания с микроРНК (miR-312, miR-313 и miR-92a). Также была разработана схема скрещиваний для получения дрозофил с гиперэкспрессией конкретной микроРНК и соответствующей экспрессией GFP под промотором Gal4, проявляющейся в глазных имажинальных дисках и глазах.

Данная работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-00840 мол\_а.

## PHYLOGENETIC STRUCTURE AND PHYLOGEOGRAPHY OF THE LITTLE OWL *ATHENE NOCTUA* GROUP

Starikov I.J., Wink M.

*Institute of Pharmacy and Molecular Biotechnology, University of Heidelberg, Germany,  
Heidelberg*

*silberalk@gmail.com*

The Little Owl *Athene noctua* is a small nocturnal predator which has wide range from Western Africa to Russian Far East and counts traditionally 13 subspecies. Their genetic investigation was started but larger research on different groups inside this taxon is required [1]. We used sequences from the birds across all their species range issued from our collection. Mitochondrial *cyt b* and nuclear *RAG-1* genes were selected. Phylogenetic analysis carried with Maximum Likelihood and Bayesian Interference methods reveals three major clades corresponding to South European and Middle Eastern Little Owls including *lilith* and *indigena* subspecies, populations from Central Europe with *A. n. vidalii* and birds from Eastern Asia including race *plumipes*. Differences between European Eagle Owls are confirmed by previous phylogeographic study with mitochondrial *CR1* and *COI* markers which also reveal their Pleistocene glacial refugia in Mediterranean Basin [2]. Distant position of *lilith* and *plumipes* on the phylogenetic tree of Little Owls show originality of these taxa and demonstrate that they should be elevated to species level as it was proposed before [3], also it is right for *indigena* which belongs to *lilith* group. Position of Little Owls from other groups and their geographic relationship are also discussed.

[1]. Holt D.W., Berkley R., Deppe C., Enríquez Rocha P., Petersen J.L., Rangel Salazar J.L., Segars K.P., Wood K.L., Kirwan G.M., Christie D.A. & Marks J.S., Little Owl (*Athene noctua*). // 2019, del Hoyo J., Elliott A., Sargatal J., Christie D.A. & de Juana E. (eds.), Handbook of the Birds of the World Alive, Lynx Edicions, Barcelona (retrieved from <https://www.hbw.com/node/55092> on 29 January 2019).

[2]. Pellegrino I., Negri A., Cucco M., Mucci N., Pavia M., Šálek M., Boano G. & Randi E., Phylogeography and Pleistocene refugia of the Little Owl *Athene noctua* inferred from mtDNA sequence data. // 2014, Ibis, V. 156, I. 3, P. 639-657.

[3]. Wink M., El-Sayed A.-A., Sauer-Gürth H. & Gonzalez J., Molecular Phylogeny of Owls (Strigiformes) Inferred from DNA Sequences of the Mitochondrial Cytochrome *b* and the Nuclear *RAG-1* gene // 2009, Ardea, V. 97, I. 4, P. 581-592.

## ЗАКОН ГОМОЛОГИЧЕСКИХ РЯДОВ ВАВИЛОВА И ПРИНЦИП ФАЛЬСИФИКАЦИИ ПОППЕРА

Суслов В.В., Пономаренко М.П., Рассказов Д.А.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090*

*valya@bionet.nsc.ru*

Закон гомологических рядов (ЗГР) Вавилов объяснял взаимодействием пула генов-гомологов и общего сходства пути от гена к признаку, но прогресс познания задающих этот путь взаимодействий генов в экспрессии/развитии почти не отражен между первой и последней статьёй о ЗГР. Минимум взаимодействий генов и в выборе признаков для ГР: они без иерархии (иначе отдельно строятся ГР по субпризнакам); без эпистаза (нечувствительность радикала к включению новых признаков); ГР комбинативны [1]. Это контраст к современной и Коповой интерпретации ГР как эволюции в коррелятивном ограниченном пространстве возможностей (ОПВ), заданном иерархией взаимодействий генов/признаков.

ЗГР остался эмпирическим правилом: правило будет законом, когда исключения подтверждают его, очерчивая область применимости, как вышло с другим законом параллелизма – Мюллера-Геккеля, ставшим “песочными часами” эмбриогенеза. Правила и исключения выводятся с общей позиции (главная/дополнительные периодичности таблицы Менделеева (ТМ) [2]), иначе – единая позиция невозможна. От обратного это принцип Поппера.

Web-сервисом SNP TATA Comparator изучены ТАТА-боксы с флангами и композиционные элементы (КЭ) из ТАТА-боксов, перекрытых флангами с другими сайтами. Негомологичные мутации флангов и кора ТАТА-боксов, сайтов КЭ взаимокompенсируются при функциональном перекрытии (ФП), давая ЗГР. Накопление негомологичных мутаций при ФП дает координированное расхождение ГР, на малой выборке выглядящее как дивергентное древо – исключение из ЗГР (реально ЗГР не выполняем лишь при невозможности ФП). Зависит лишь от мутабельности и степени ФП, но не его молекулярного механизма процесс идет в неизменной среде. Снижение, но не утрата ФП, в т.ч. фиктивное ФП из-за роста диахронии работы признаков, замедляет расхождение ГР, а рост числа признаков с ФП друг друга – ускоряет его, снижая координацию. Итак, по характеру признаков можно судить о выполнении ЗГР и типе исключений.

Облигатное взаимодействие признаков, порождая эмерджентный признак, задает иерархию ОПВ, стабилизируя ГР (общий принцип ТМ [2]), но снижает возможность ФП. Отсюда и стабильность рефренов Мейена тем более высокая, чем ниже вклад живого, и распад ГР с эпистазом в радикале у Синской [3]. Итак, ЗГР Вавилова и параллелизм в ОПВ – разные ГР.

[1]. Вавилов Н.И., Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. Л., 1987, 256 с.

[2]. Кораблева Т.П., Корольков Д.В., Теория периодической системы. СПб., 2005, 174 с.

[3]. Синская Е.Н. Динамика вида. М.-Л., 1948, 527 с.

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ В ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС, СЕЛЕКЦИОНИРОВАННЫХ НА РУЧНОЕ И АГРЕССИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ

Чадаева И.В.<sup>1,2</sup>, Климова Н.В.<sup>1</sup>, Шихевич С.А.<sup>1</sup>, Кожемякина Р.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 2  
[ichadaeva@bionet.nsc.ru](mailto:ichadaeva@bionet.nsc.ru)

Целью работы было изучение механизмов, детерминирующих наследственно-закрепленное агрессивное поведение у животных на модельном объекте – серых крысах, селекционированных на ручное и агрессивное поведение на протяжении более 40 лет (с 1972 г., 90 поколений) [1]. Мы предположили, что у животных с контрастными поведенческими реакциями (повышенная агрессивность у крыс агрессивной линии и отсутствие агрессивности у крыс ручной линии) экспрессия определенных генов в головном мозге должна статистически достоверно различаться. Чтобы проверить эту гипотезу мы сформировали список генов, ассоциированных с агрессивным поведением, включающий следующие гены: *Egr1*, *Gad2*, *Syn1*, *Pomc*, *Gabrd*, *Mapk*, *Drd2* и *Cacna2d3*.

Методы: работа выполнена на ручных (n=3) и агрессивных крысах (n=3). Для оценки уровней экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени были выбраны отделы головного мозга: гипоталамус, гиппокамп, периакведуктум серого вещества (ПСВ) и покрышка среднего мозга (ПСМ).

В результате экспериментальной верификации в каждом из выбранных отделов головного мозга были выявлены группы дифференциально экспрессирующихся генов у агрессивных и ручных крыс. Так, в гипоталамусе агрессивных крыс достоверно выше (по сравнению с ручными) экспрессируются гены *Egr1* и *Drd2*; в гиппокампе уровень экспрессии генов *Syn1*, *Pomc*, *Gabrd*, *Mapk* и *Drd2* достоверно выше у крыс ручной линии, а гена *Egr1* – у агрессивной. В ПСВ у крыс агрессивной линии достоверно выше уровень экспрессии генов *Egr1* и *Gad2*, а в ПСМ ручных крыс – генов *Syn1* и *Cacna2d3*. Уровень экспрессии *Egr1* у агрессивных крыс статистически значимо выше сразу в нескольких отделах мозга: в гипоталамусе, гиппокампе и ПСВ.

Заключение: проведенный анализ экспрессии генов в отделах головного мозга у крыс, селекционированных на ручное и агрессивное поведение, подтвердил наше предположение о дифференциальной экспрессии выбранных генов и согласуется с литературными данными о том, что агрессивное поведение животных имеет мультилокусную детерминацию, т.е. фенотипическое проявление агрессивных реакций особи обусловлено экспрессией многих генов [2].

[1]. Belyaev D.K. & Borodin P.M. The influence of stress on variation and its role in evolution. // 1982, Biol. Zent., V.100, P.705–714

[2]. Kudryavtseva N.N. et al. Aggressive behavior: Genetic and physiological mechanisms // 2015, Russian Journal of Genetics: Applied Research. V.5(4), P.413-429

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта №18-34-00496

## ЭВОЛЮЦИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ОБЛАСТИ ПРОМОТОРА КОНСЕРВАТИВНОГО ГЕНА DRAS1 У ДРОЗОФИЛ

Чекунова А.И.<sup>1</sup>, Сорокина С.Ю.<sup>1</sup>, Бахтояров Г.Н.<sup>2</sup>, Куликов А.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Россия, Москва, 119334, ул. Вавилова, д. 26; <sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Россия 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д.5а  
[annachek-n@mail.ru](mailto:annachek-n@mail.ru)

Механизмы формирования эволюционной изменчивости некодирующих последовательностей ДНК, в том числе регуляторных последовательностей генов, остаются малоизученными и недооцененными. Такая недооценка особенно показательна при анализе изменчивости промоторных областей консервативных генов у видов, обладающих разной степенью родства в пределах невысокого таксономического ранга.

На модели гена *Dras1* у видов дрозофил подродов *sophophora* и *drosophila* показана смена промотора и точки старта транскрипции, а также всей предшествующей последовательности в ходе эволюции видов рода *Drosophila*. Можно утверждать, что одно из этих событий маркирует разделение подродов *sophophora* и *drosophila*, и еще одно сопровождается выделением группы видов *melanogaster*. События, сопровождаемые значительной перестройкой предпромоторной области, происходили значительно чаще. Мы отмечали ранее, что эти изменения сопровождались хромосомными перестройками в области гена *Dras1* и инсерционными событиями, связанными с активностью мобильных элементов. Консервативная функция данного гена приводит к фатальным нарушениям онтогенеза при изменении характера экспрессии или выключении гена, приводящим к летальности или морфологическим нарушениям с пониженной жизнеспособностью. При закреплении таких изменений в ходе эволюции должно происходить «мгновенное» (на протяжении нескольких поколений) восстановление функции гена. Мы определили 10 эволюционно консервативных последовательностей длиной от 29 до 50 п.о., характерных для области промотора гена *Dras1* и по-разному распределенных в этой области у изученных видов. Две последовательности обнаруживаются только у видов группы *virilis*. Еще две последовательности характерны для всех изученных видов подрода *drosophila*, причем последовательности на плюс-цепи у всех видов расположены сходным образом. Две последовательности представлены у всех видов подрода *drosophila* и у *D.willistoni*. Четыре последовательности, представленные у всех или большинства изученных видов, расположены и многократно повторены на обеих цепях ниже последовательности промотора.

Расположение последовательностей может свидетельствовать о сохранении общей гомологии и происхождения транскрибируемого участка гена ниже 180-200 п.о. от TSS. Для гомологичных последовательностей у разных видов характерны сходный состав потенциальных сайтов связывания транскрипционных факторов, известных для *D.melanogaster*, и значительное снижение их количества для последовательностей, расположенных на минус-цепи.

## РАННИЙ ООГЕНЕЗ ЖИВОРОДЯЩЕЙ ЯЩЕРИЦЫ *Zootoca vivipara*, В ПРОФАЗЕ 1 МЕЙОЗА.

Куприянова Л.А. , Сафронова Л.Д. , АЦитрина.А. , Чекунова А.И. , Осипов Ф.А.  
Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург, 199034  
Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071 Институт  
биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334 Москва, ул. Вавилова, 26, e-mail:  
[ldsafroнова@gmail.com](mailto:ldsafroнова@gmail.com)

У самок живородящей ящерицы *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) (семейство Lacertidae) из Северо-Запада (и Центральной России) ( $2n = 35: 32A$  (acrocentric autosomes) +  $Z1Z2W$  половые хромосомы) исследованы клетки большого желточного яйца содержащие множество фолликул (ооциты) в полости яичника, а также клетки ламинарной пластинки. Использовали прямой метод получения хромосом, окрашенных красителем Гимза и метод Дрессера и Мозеса для получения тотальных распластанных ядер ооцитов. Для визуализации синаптонемных комплексов (СК) тотальные препараты ядер ооцитов окрашивали азотнокислым серебром и проводили иммуноокрашивание с помощью инкубации с первичными и вторичными SYCP3 (протеин СК осевых элементов). Показано, что в ходе оогенеза самки первичные фолликулы входят в ранние стадии профазы 1 мейоза (от лептотены до диплотены, хромосомы приобретают вид ламповых щеток). Впервые получены и изучены тотальные препараты распластанных ооцитов. На основе светомикроскопического анализа ооцита самки представлент СК – кариотип ( $2n=35$ ), состоящий из 19 СК элементов, среди которых выделены 16 СК аутомомных бивалентов. Оставшиеся 3 СК элементы, по мнению авторов, могут представлять собой униваленты  $Z1Z2W$  половых хромосом или ивалент  $WZ1$  и униваленты  $Z2$  и  $B$  -хромосомы . Как и в СК кариотипе самцов *Z. vivipara* у самки отмечены особенности в морфологии СК 5- 6 –ой хромосом. Работа подготовлена при частичной финансовой поддержке гранта номер ААААА17- 117030310017-8

## СТРУКТУРА И ЭВОЛЮЦИЯ ЦЕНТРОМЕРНОГО ГИСТОНА CENH3 У ВИДОВ ТРИБЫ TRITICEAE

Вершинин А.В.<sup>1</sup>, Евтушенко Е.В.<sup>1</sup>, Елисафенко Е.А.<sup>1,2</sup>, Гацкая С.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090

[avershin@mcb.nsc.ru](mailto:avershin@mcb.nsc.ru)

У большинства видов позиции центромер на хромосомах определяются присутствием центромер-специфического гистона H3 (CENH3) в нуклеосомах. Как правило, структура CENH3 отличается от консервативной структуры канонического гистона H3 значительной вариабельностью между видами [1]. Трибу Triticeae составляют несколько родов злаков, среди которых наиболее эволюционно близкими являются пшеница (*Triticum*), ячмень (*Hordeum*) и рожь (*Secale*). Виды культурной и дикой ржи характеризуются различиями в системах оплодотворения (самоопыление и перекрестное опыление), протяженностью жизненного цикла (однолетние и многолетние). Они проявляют повышенную адаптационную способность к более широкому спектру неблагоприятных факторов среды (климат, засоление почв, вредители) по сравнению с видами пшеницы и ячменя. Мы определили молекулярную структуру и филогенетические взаимоотношения белков CENH3 у 11 видов и подвидов ржи, которые обладают различными системами скрещивания и адаптированы к различным биотическим и абиотическим стрессовым факторам. В геноме культурной ржи (*Secale cereale*) выявлены два гена-паралога CENH3, которые отличаются интрон-экзонной структурой и транскрибируются в две основные формы белка,  $\alpha$ CENH3 и  $\beta$ CENH3. Они различаются размером молекул и аминокислотным составом и локализируются в перемежающихся доменах центромер митотических хромосом. Нуклеотидные и аминокислотные выравнивания CENH3s из видов и подвидов *Secale* выявили высокий уровень подобия, несмотря на отмеченные выше различия в морфологии, протяженности жизненного цикла и системах размножения. Эволюция белков CENH3 в роде *Secale* контролируется факторами очищающей селекции. Сравнение между видами *Hordeum*, *Secale* и *Triticum* показало, что структура CENH3 в подтрибах Hordeinae и Triticinae (объединяет роды *Secale* и *Triticum*) эволюционирует с различной скоростью. Высокий уровень подобия между CENH3s ржи и пшеницы указывает на эволюционную стабильность и консерватизм генетических факторов, участвующих в контроле структуры CENH3 в подтрибе Triticinae. В докладе обсуждается роль ретикулярной эволюции в качестве фактора, стабилизирующего структуру и скорость эволюции CENH3.

Работа выполнена при поддержке проекта РФФИ (17-04-00748а) и Российской программы фундаментальных научных исследований (проект 0310-2018-0010).

[1]. Maheshwari S. et al., Naturally occurring differences in CENH3 affect chromosome segregation in zygotic mitosis of hybrids. // 2015, PLoS Genet. 11 (1): e1004970.

## rRNA GENE AMPLIFICATION IN OOGENESIS

Gaginskaya, E.R., A.G. Davidian, E.I. Koshel, A.G. Dyomin, A.A. Sokolovskaya, M.M. Kulak, A.F. Saifitdinova, S.A. Galkina

Saint-Petersburg State University, Universitetskaya emb. 7/9, Saint-Petersburg, Russia  
[elena.gaginskaya@gmail.com](mailto:elena.gaginskaya@gmail.com)

About 90 % of the large stock of RNA in the mature oocyte is represented by ribosomal RNA (rRNA). The sources of oocyte rRNA vary strongly from species to species in accordance with the diversity of oogenesis types. The hypertranscriptional type is usually accompanied by the rDNA amplification and intensive transcription of rRNA genes in numerous extrachromosomal nucleoli. The phenomenon of rDNA amplification has been described for various animals, being most studied in amphibian oogenesis. Notably, among Sauropsida there is no rDNA amplification in oocytes of birds and lizards. So, we investigated rRNA gene functioning in oocytes of another representative of Sauropsida – the turtle *Trachemys scripta*. First, we have reconstructed rDNA cluster in *T. scripta* genome using DNA Illumina sequence reads retrieved from NCBI Sequence Read Archive (SRA) and the sequenced genome of close species *Malaclemys terrapin* as a reference. To investigate rRNA gene functioning and nucleoli nature in turtle oocytes, a FISH probe for 5'ETS (5' end transcribed spacer) was developed. The probe allowed FISH detection of both rDNA and/or pre-rRNA in germinal vesicles (GV – oocyte nucleus). Applying FISH with 5'ETS probe and immunostaining with antibodies against nucleolus marker proteins, dsDNA and DNA synthesis marker PCNA to both ovary cryo-sections and isolated GV content, we obtained data that definitely confirmed rRNA gene amplification in turtle oocytes. Nevertheless, the pattern of rDNA amplification in turtles was found to be rather different from that of amphibians. In the latter, rDNA amplification occurs in early meiotic prophase resulting in a dense rDNA cap formation at pachytene. Numerous rDNA amplicons within the DNA cap give rise to thousands of extrachromosomal nucleoli at diplotene. Turtles, in contrast, have the single nucleolus in small diplotene oocytes. However, with the growth of the oocyte the number of nucleoli increases dramatically; some of them get significantly increased in size. New replication cycles of the amplified copies of rDNA appear to happen inside the nucleoli with the participation of PCNA proliferative factor. The results obtained show variability of rDNA amplification mechanisms in oogenesis and confirm the absence of evolutionary trend in rRNA gene expression pattern in oocytes at macroevolution level.

**Acknowledgements:** The research is sponsored by RBRF (18-04-01276), the equipment of SPbU «Chromas» Resources Centre has been used.

## МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК УЧАСТВУЕТ В РЕКОМБИНАЦИИ

Гребельный С.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Зоологический институт, Россия, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб. 1  
[sgrebelnyi@gmail.com](mailto:sgrebelnyi@gmail.com)

Согласно традиционным представлениям митохондриальная ДНК, в отличие от ядерных генов, передается от материнской особи к потомкам без рекомбинации. Нуклеотидные замены накапливаются в ней лишь благодаря ошибкам репликации, и число их считается надежной мерой времени. По ним судят о степени родства и таксономической близости организмов.

Современные исследователи, пытаясь облегчить идентификацию видов, секвенируют небольшой участок митохондриального гена цитохром-С оксидазы (CO1; i.e. cytochrome C oxidase subunit I), присутствующего в геноме почти всех обитающих в аэробной среде организмов. Такой подход («баркодинг») дает хорошие результаты, когда необходимо разделить дарвиновские «разновидности», дивергировавшие путем постепенного накопления мелких наследуемых отличий, а также майровские «биологические виды», расходящиеся путем накопления мутаций и изменения частот аллелей, согласно закономерностям современной популяционной генетики. Использование молекулярных маркеров позволяет проследить эволюционные процессы, требующие времени, но оно не дает возможности обнаружить гибридное видообразование, полиплоидизацию и любые другие скачкообразные, сальтационные перемены. Верно и обратное: любая трансформация (инверсия, делеция и пр.), затрагивающая только нуклеотидную последовательность молекулярного маркера, может быть привлечена в качестве весомого признака, но, не сопровождаясь изменениями в других генах, она будет служить ложным доказательством таксономических различий.

Сравнение нуклеотидных последовательностей мтДНК давно позволило путем статистического анализа показать, что они содержат продукты рекомбинации [1], но при филогенетических реконструкциях это не принимается во внимание. Ядерные копии мтДНК, *numts* (NUclear sequences of MiTochondrial origin), также постоянно служат причиной ошибок. Из-за большой гомологии их путают с настоящей, работающей в митохондриях ДНК [2]. Более того, в недавнее время получены прямые доказательства обмена участками работающей в митохондриях ДНК с ее «архивными копиями», *numt*(ами), лежащими в ядре [3]. При изучении популяций соловья-красношейки из разных концов его обширного ареала показано, что митохондриальные гаплотипы восточных подвидов этой птички *Luscinia calliope anadyrensis*, *Luscinia c. camtschatkensis* и *L. c. sachalinensis* представляют собой результат рекомбинации мтДНК с нуклеотидной последовательностью *numt*(а), обнаруженного в ядре сибирских птиц *Luscinia calliope calliope*.

[1]. Eyre-Walker A., Smith N. H. and Maynard-Smith J., On How clonal are human mitochondria? // 1999, Proc. R. Soc. Lond., Ser. B, V.266, P.477-483.

[2]. Leite L.A.R., Mitochondrial pseudogenes in insect DNA barcoding: differing points of view on the same issue. // 2012, Biota Neotropica, V.12, P. 301-308.

[3]. Спиридонова Л.Н., Вальчук О.П., Редькин Я.А., Сайто Т., Крюков А.П., Филогеография и демографическая история соловья-красношейки *Luscinia calliope*. // 2017, Генетика, Т.53, №53, С. 933-951.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке УНУ «Фондовые коллекции Зоологического института» (УФК ЗИН РАН) рег. №2-2.20

## SEQUENCES DIVERGENCE IN SYMPATRIC AND ALLOPATRIC POPULATIONS AND HETEROPLASMY OF CHLOROPLAST DNA IN *HEDYSARUM AUSTROSIBIRICUM* AND *H. CONSANGUINEUM* (FABACEAE)

Dorogina O.V.<sup>1</sup>, Nuzhdina N.S.<sup>1</sup>, Bondar A.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Central Siberian Botanical Garden of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Zolotodolinskaya st. 101, Novosibirsk, Russia; <sup>2</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Lavrentiev Avenue 8, Novosibirsk, Russia

[nznuzhdina@gmail.ru](mailto:nznuzhdina@gmail.ru)

Chloroplast DNA sequences should provide rapid and accurate information concerning genomic variability, phylogeny and evolution of plants. None-coding intergenic spacer *trnL-trnF* is treated as one of the most perspective and effective chloroplast DNA barcodes due to the high conservatism of the primer binding sites and robust PCR. The present paper focused on the study of *trnL-trnF* variability in sympatric and allopatric populations of phenotypically cryptic legumes *Hedysarum austrosibiricum* and *H. consanguineum* (Fabaceae family) in order to reveal evolutionary relationships and to estimate the level of genetic divergence between the species. These two sister species are characterized by close pheno-morphological properties, ecology and they also have a geographic areas overlapped in mountains of Southern Siberia where the species grow in common alpine and sub-alpine meadows. Wide range sampling accessions from Tuva republic and Altai Mountains recovered high chloroplast cytotypic variability in *H. austrosibiricum* and *H. consanguineum* which is reflected at the distribution map of haplotypes. The significant length polymorphism (324-579 bp) and nucleotide variability have been detected by the study of intergenic spacer *trnL-trnF* of chloroplast DNA in *H. austrosibiricum* and *H. consanguineum*. This region was investigated for the both of congeners for the first time. In this study we revealed a deletion (–) of *trnL* intron for *H. austrosibiricum* (332-335 bp), whereas *H. consanguineum* accessions were characterized by a full-length *trnL-trnF* region (548-579 bp). Remarkably, for one accession of *H. consanguineum* (NSK0009880), it was detected a chloroplast cytotypic variability. This plant possesses two cytotypes, *trnL* (+) and (–), with the length of 324 and 548 bp, simultaneously. This phenomenon is the first case of chloroplast heteroplasmy in *Hedysarum* [1]. In order to determine the potential mechanisms of origin and distribution pattern of chloroplast haplotype variability and heteroplasmy in *H. austrosibiricum* and *H. consanguineum*, additional chloroplast markers will be examined. Obviously, this may be a prominent contribution of molecular genetics to plant speciation concepts and to genetic definition of sympatric and allopatric populations.

[1] Nuzhdina N.S., Bondar A.A., Dorogina O.V., New data on taxonomic and geographic distribution of the *trnL<sub>UAA</sub>* intron deletion of chloroplast DNA in *Hedysarum* L. (Fabaceae L.). // 2018, Russ. J. Genet., V.54, № 1, P.1236-1274.

This work was supported by the governmental project of CSBG SB RAS VI.52.1.1 № AAAA-A17-117012610051-5.

## ИМПОРТ ДНК В МИТОХОНДРИИ: ЧЕРЕЗ ВЫЯВЛЕНИЕ МЕХАНИЗМА К ВОЗМОЖНЫМ ГЕНЕТИЧЕСКИМ ФУНКЦИЯМ И ПРИЛОЖЕНИЯМ

Тарасенко В.И., Тарасенко Т.А., Клименко Е.С., Субота И.Ю., Шмаков В.Н.,  
Кулинченко М.В., Константинов Ю.М.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Россия, Иркутск, 664033,  
ул. Лермонтова 132;

[yukon@sifibr.irk.ru](mailto:yukon@sifibr.irk.ru)

Геном митохондрий растений отличается большими размерами и наличием видоспецифических наборов кольцевых и линейных плазмид. Возникшие в эволюции растительных видов особенности организации геномов митохондрий связывают с активным горизонтальным переносом генов, возможным, вероятно, благодаря способности митохондрий эукариот к импорту ДНК [1-3]. До сих пор импорт ДНК в митохондрии остается малоизученным. Цель работы: выяснение механизмов импорта ДНК разной длины и структуры в митохондрии растений. Известно, что импорт ДНК происходит с участием порина (VDAC) и адениннуклеотидтранслоказы [1,2]. Тем не менее, перенос ДНК в матрикс может происходить с участием нескольких механизмов, в которых могут играть различную роль изоформы VDAC. Изучение роли VDAC в механизме импорта ДНК с применением мутантов арабидопсиса по кодирующим изоформы порина VDAC1 и VDAC3 генам показало, что митохондрии мутантов с отсутствием одной из изоформ VDAC импортируют ДНК более активно, чем таковые растений дикого типа. Мембраны эндоплазматического ретикулаума вызывают активацию импорта ДНК в митохондрии *in organello*. Это указывает на вероятную роль взаимодействий этих органелл в импорте ДНК *in vivo*. Установлено, что находящаяся в цитоплазме протопластов ДНК поступает в митохондрии. С применением протопластов, полученных из листьев растений дикого типа и мутантов по изоформам порина, обнаружена активация импорта ДНК в митохондрии мутанта с инактивированной изоформой порина VDAC1 в отличие от импорта ДНК в митохондрии протопластов дикого типа. Сходство характеристик импорта ДНК в изолированных митохондриях и протопластах позволяет заключить, что выявляемые закономерности импорта ДНК *in organello* отражают процессы, протекающие *in vivo*.

**Благодарности:** Работа выполнена за счет средств гранта РФФИ 18-04-00603.

[1]. Koulintchenko, M., Konstantinov, Y. and Dietrich, A., Plant mitochondria actively import DNA via the permeability transition pore complex. // 2003, EMBO J., V.22, P.1245-1254.

[2]. Koulintchenko, M., Temperley, R.J., Mason, P.A., Dietrich, A. and Lightowers, R.N., Natural competence of mammalian mitochondria allows the molecular investigation of mitochondrial gene expression. // 2006, Hum. Mol. Genet., V.15, P.143-154.

[3]. Weber-Lotfi, F., Ibrahim, N., Boesch, P., Cosset, A., Konstantinov, Y., Lightowers, R.N., Dietrich, A., Developing a genetic approach to investigate the mechanism of mitochondrial competence for DNA import. // 2009, Biochim. Biophys. Acta, V.1787, P.320-327.

## СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БЕЛКА QTC *DROSOPHILA* *MELANOGASTER*

Куликов А.М. , Горностаев Н.Г., Кравчук О.И.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Россия, Москва, ул. Вавилова 26  
[amkulikov@gmail.com](mailto:amkulikov@gmail.com)

Белок QTC, участвующий в формировании полового поведения *D. melanogaster*, обнаружен в голове во фракции мембранных белков. Известно, что нарушение гена *qtc* приводит к увеличению числа попыток спаривания самцов с самцами, что может быть следствием повышенной сексуальной активности в целом. Снижение экспрессии *qtc* при помощи РНК интерференции в грибовидных телах (структурах, участвующих в процессах памяти и обучения) нарушало способность самцов определять самку с помощью хеморецепции, в то время как снижение экспрессии только во вкусовых и хемосенсорных периферических нейронах не оказывало влияния на этот процесс. Проведенные нами исследования показали некоторые изменения брачного ритуала у мух с делецией *qtc*. Молекулярные функции белка QTC остаются неизвестными. Мы предполагаем, что *qtc* участвует в обработке информации, полученной от различных анализаторов, а не только от хеморецепторов. Чтобы понять, в каких биологических процессах участвует белок QTC, мы изучили его эволюционные особенности и нашли функциональные домены в его структуре. Нами была проанализирована структура гена *qtc* у 12 видов из рода дрозофил. QTC относится к суперскрученным белкам. Во всех транскриптах, кроме *qtc-PH* мы обнаружили консервативный GRIP домен, обычный для С-концов различных суперскрученных белков и участвующий в связывании с аппаратом Гольджи. В 8-м экзоне во всех транскриптах и у всех 12 видов дрозофил присутствует участок гомологии с фрагментом домена CDC37, обеспечивающего специфическое связывание различных протеинкиназ с шапероном HSP90. У всех проанализированных видов дрозофилы присутствует НООК домен, участвующий в ассоциации с микротрубочками и характерный для суперскрученных белков, и белков, связанных с аппаратом Гольджи. В конце 10 экзона у единственной изоформы белка *qtc-PH* найден высоко-консервативный трансмембранный домен. В соответствии с проведенным анализом доменной организации последовательностей сплайс-вариантов гена QTC, можно заключить, что изоформа *qtc-PH* является экспортируемым белком, представленным на внешней мембране клетки и принимающей участие либо в рецепции сигналов в составе гетеродимерных комплексов рецепторов, либо в связывании с межклеточным матриксом. Остальные изоформы, несущие GRIP домен, могут быть связаны с активацией шаперонов в аппарате Гольджи, либо экспортироваться во внеклеточное пространство и выполнять роль сигнальных молекул.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 18-04-00177 А) и Государственного задания ИБР РАН, № 0108-2018-0001

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВИДОВ РОДА *HEDYSARUM* L. (FABACEAE).

Муравенко О.В., Саматадзе Т.Е., Зошук С.А., Амосова А.В., Юркевич О.Ю.

ФГБУН Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта

Российской академии наук, 119991 Россия, Москва, ул. Вавилова, д.32

[olgmur1@yandex.ru](mailto:olgmur1@yandex.ru)

Копеечники (*Hedysarum*) - одна из трудных в систематическом отношении групп в семействе бобовых (*Fabaceae*) [1]. Ряд видов этого рода известен как продуценты биологически активных соединений с широким спектром иммуностимулирующего, противоопухолевого, антибактериального, противовирусного и фунгицидного действия. В настоящее время сведений о хромосомной организации копеечников, их пloidном статусе и родственных взаимоотношениях видов внутри рода немного. Не для всех видов рода *Hedysarum* известны даже хромосомные числа, но установлено, что основное число хромосом у изученных представителей этого рода составляет 7 или 8 [2], и причина такой хромосомной вариабельности неясна. Исследования метафазных хромосом у видов рода *Hedysarum* проводились методами монохромного окрашивания, за исключением одного алжирского вида копеечника, на хромосомах которого были локализованы кластеры генов 45S и 5S рРНК [3]. В настоящем исследовании с использованием FISH с пробамми 45S и 5S рДНК впервые исследованы кариотипы четырех видов *H. alpinum*, *H. arcticum*, *H. neglectum* и *H. theinum* секции *Gamotion* (*Obscura*), произрастающих на территории РФ. Установлено, что исследуемые виды имеют сходные кариотипы с 7 парами, в основном, субметацентрических хромосом ( $2n=14$ ) среднего размера (4-7 мкм). У *H. alpinum* крупные сайты 45S рДНК локализованы в коротком плече хромосомы 5, и два сайта 5S рДНК - медианно в коротких плечах хромосом 3 и 4. В кариотипе *H. arcticum* также имеется сайт 45S рДНК на хромосоме 5, а сайт 5S рДНК - локализован только в прицентромерном районе хромосомы 3. У *H. theinum* наблюдается аналогичный *H. arcticum* рисунок распределения сайтов гибридизации рДНК. В кариотипе *H. neglectum* помимо основных сайтов 45S рДНК, локализованных на двух парах хромосом, выявлены дополнительные минорные сайты на двух парах хромосом и высокий полиморфизм распределения множественных сайтов 45S рДНК в кариотипах образцов из различных мест произрастания. У всех образцов *H. neglectum* сайт 5S рДНК расположен на хромосоме 3. Проведенное исследование показало, что все изученные виды имеют основное число хромосом равное 7, сходные кариотипы, на хромосоме 5 кластер генов 45S рРНК и на хромосоме 3 кластер генов 5S рРНК, что указывает на близость их геномов и подтверждает мнение систематиков, объединяющих их в одну секцию *Gamotion* (*Obscura*) [1]. Различия по числу и локализации кластеров генов рРНК свидетельствуют, что дивергенция геномов изученных видов сопровождалась их реорганизацией.

[1] Васильева Л.И. Копеечник *Hedysarum* L. // Флора европейской части СССР. Ленинград: Наука. 1987. Т. 6. С. 87-93.

[2] Choi B.H., Ohashi H. Generic criteria and an infrageneric system for *Hedysarum* and related genera (*Papilionoideae-Leguminosae*) // Taxon. 2003. V. 52. P. 567-576.

[3] Benhizia H., Benhizia Y., Ghernoub L., Siljak-Yakovlev S., Khalfallah N. Meiotic behaviour and karyotype features of endangered endemic fodder species *Hedysarum perrauderianum* (Fabaceae) in some populations from Algeria // Caryologia. 2013. V. 66. P. 195-204.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-04-01091 и в рамках Программы фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013 - 2020 годы (тема № 01201363824).

## ФИЛОГЕНЕТИКА, ЭКОЛОГИЯ И биогеография АСКОМИЦЕТОВЫХ дрожжей РОДА *Komagataella*

Наумова Е.С. , Наумов Г.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», 1-й Дорожный проезд 1, Москва 117545, Россия

[lenua\\_naumova@yahoo.com](mailto:lenua_naumova@yahoo.com)

Характерной особенностью метилотрофных дрожжей *Komagataella* является их способность расти на метаноле как на единственном источнике углерода. Эти дрожжи представляют большой интерес для биотехнологии в качестве продуцентов различных гомо- и гетерологичных белков, важных для медицинской и микробиологической промышленности. В настоящее время род *Komagataella* включает семь биологических видов: *K. pastoris*, *K. pseudopastoris*, *K. phaffii*, *K. mondaviorum*, *K. populi*, *K. ulmi* и *K. kurtzmanii* [1–3]. Последние три вида представлены только типовыми культурами.

Мы провели молекулярно-генетический анализ 38 штаммов *Komagataella*, выделенных из различных природных источников в Европе, Северной Америке, Японии и на Тайване. Филогенетическое родство изученных штаммы было установлено сравнительным анализом нуклеотидных последовательностей домена D1/D2 26S рДНК, 5.8S-ITS-фрагмента, генов EF-1альфа и RPB1. Филогенетический анализ разделил дрожжи *Komagataella* на два основных кластера. Первый включает *K. pastoris*, *K. kurtzmanii*, *K. phaffii* и *K. ulmi*. Тогда как *K. mondaviorum*, *K. populi* и *K. pseudopastoris* сформировали второй кластер. Все семь видов *Komagataella* могут быть дифференцированы по ITS-последовательностям: 7–35 нуклеотидных замен. При этом, внутривидовой полиморфизм этого участка рДНК не превышал двух нуклеотидных замен. Согласно гибридологическому анализу, виды рода *Komagataella* обладают пост-зиготической изоляцией и формируют стерильные гибриды. Генетическая изоляция биологических видов *Komagataella* может быть связана с рядом причин. Виды *Komagataella* отличаются по биогеографии. Штаммы пяти видов (*K. mondaviorum*, *K. kurtzmanii*, *K. phaffii*, *K. populi* и *K. ulmi*) встречаются в Северной Америке, тогда как *K. pastoris* и *K. pseudopastoris* характерны для Европы. Вторым фактором может быть экология видов *Komagataella* – их ассоциация с определенными растениями и/или векторами-насекомыми.

Исследование выполнено по Госзаданию №595-00003-19 ПР.

[1]. Kurtzman CP (2011) *Komagataella* Y. Yamada, Matsuda, Maeda & Mikata 1995. In: Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T (eds) *The Yeasts. A Taxonomic study*. Elsevier, Amsterdam, pp 491–495

[2]. Naumov GI, Naumova ES, Tyurin OV, Kozlov DG. (2013) *Komagataella kurtzmanii* sp. nov., a new sibling species of *Komagataella (Pichia) pastoris* in accordance with multigene sequence analysis. *Antonie van Leeuwenhoek*. 104 (3):339–347.

[3]. Naumov G.I., Naumova E.S., Boundy-Mills K.L. 2018. Description of *Komagataella mondaviorum* sp. nov., a new sibling species of *Komagataella (Pichia) pastoris*. *Antonie van Leeuwenhoek*. 111 (7):1197–1207.

## ВКЛАД МИТОГЕНОМИКИ В МОЛЕКУЛЯРНУЮ ФИЛОГЕНЕТИКУ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ: СООТВЕТСТВИЕ МЕЖДУ ГЕННЫМИ И ВИДОВЫМИ ДЕРЕВЬЯМИ

Олейник А.Г.

Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН, Россия, Владивосток, 690041

[alla\\_oleinik@mail.ru](mailto:alla_oleinik@mail.ru)

В филогенетических исследованиях начальные условия описания во многом определяют надежность итоговых гипотез. Интерес к этой проблеме значительно возрос в результате широкой дискуссии о соответствии между эволюцией отдельных генов и эволюцией видов. Относительный вклад числа таксонов и числа признаков в филогенетическую гипотезу является центральной по значимости проблемой для успешной реконструкции филогении. Большое количество ошибочных филогенетических выводов было сделано из-за недостаточной длины анализируемых участков ДНК, поскольку короткие фрагменты, принадлежащие только одному гену, могут нести слабый филогенетический сигнал или нефилогенетический сигнал, связанный с эволюцией конкретного гена. Для филогенетических групп *Salvelinus* и *Oncorhynchus* показано, что статистически устойчивые топологии не могут быть получены при анализе ни одного из индивидуальных участков мтДНК. Несмотря на достаточное число работ, к настоящему времени не удалось реконструировать консенсусную филогению рода *Salvelinus*. Филогенетические взаимоотношения гольцов остались неразрешенными, поскольку были выявлены полифилетические таксоны, не определены положения базальных ветвей на деревьях и др. Очевидно, что существует целый ряд филогенетических проблем, требующих решений на базе новых методов и методологических подходов.

В этом смысле митогеномика или изучение полных последовательностей митохондриальных геномов была предложена в качестве полезного инструмента для филогенетического анализа почти всех видов организмов, включая рыб. Митогеномы оказались более информативны, чем отдельные гены мтДНК или их фрагменты. На основе новых данных были опубликованы несколько филогений для отдельных родов и семейства лососевых рыб. Проблема таких реконструкций заключается в представительстве таксонов. Самый полный набор данных на сегодняшний день включает митогеномы для 25 таксонов семейства. Наименее изучен в этом отношении род *Salvelinus*, который, одновременно, является доминирующим по биоразнообразию среди лососевых рыб.

Анализ митогеномов позволяет разрешить часть противоречий, и получить дополнительные данные об эволюции лососевых рыб. Крайне необходима ревизия ранее полученных результатов, поскольку большая часть филогенетических выводов сделана на основе генных деревьев. В докладе будет оценено сходство деревьев лососевых рыб, реконструированных для различных генов мтДНК, и степень их соответствия топологии для митогеномов.

## ФЕНОМЕН ВОЗНИКНОВЕНИЯ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПАТОГЕНОВ В СВЕТЕ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА ДЕТЕРМИНАНТ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИЙ ИЗ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ

Петрова М.А., Миндлин С.З.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Российская Федерация, Москва, площадь академика И.В. Курчатова, д. 2*

*petrova@img.ras.ru*

Процесс возникновения и распространения клинических штаммов бактерий устойчивых к различным антибиотикам (АБ) происходит с огромной скоростью, буквально на наших глазах. В последние годы замечено, что распространение мультирезистентности среди патогенных штаммов заметно ускоряется. За последние 10-15 лет штаммы бактерий, устойчивые одновременно к нескольким различным АБ, практически полностью вытеснили штаммы, устойчивые только к одному АБ. Такая ситуация не только усложняет борьбу с типичными инфекционными заболеваниями, но и ставит под угрозу применение таких жизненно важных медицинских процедур, как трансплантация органов, имплантация протезов, передовая хирургия и химиотерапия раковых заболеваний. Оценивая сложившуюся ситуацию, ВОЗ предупреждает о возможном скором конце современной медицины.

В 80-х годах 20 века была сформулирована гипотеза о том, что любые природные бактерии могут являться источником генов устойчивости к антибиотикам, которые благодаря горизонтальному переносу генов (ГПГ) попадают в клинику. При проверке этой гипотезы у природных бактерий были действительно обнаружены гены устойчивости к АБ аналогичные клиническим. Однако сами авторы работ отмечали, что при таком подходе нельзя исключить возможности того, что детерминанты устойчивости к АБ у природных бактерий фактически были вторично заимствованы от комменсалов и/или патогенов человека и животных. Уникальную возможность для анализа бактерий «доантибиотической эпохи» и сравнения молекулярной структуры детерминант антибиотикорезистентности «древних» и современных бактерий предоставляют многолетнемерзлые отложения. Нашей группой на протяжении многих лет проводилось комплексное исследование генов антибиотикорезистентности и мобильных элементов, участвующих в переносе этих генов (плазмид, транспозонов, интегронов, IS-элементов), у бактерий, выделенных из образцов вечной мерзлоты. Получено множество ярких и убедительных доказательств происхождения как самих клинических генов устойчивости к антибиотикам, так и несущих их мобильных элементов и их основных модулей от детерминант устойчивости природных бактерий. Показано, что в результате активной борьбы человечества с инфекционными заболеваниями с помощью антибиотиков произошло быстрое формирование из уже существовавших до этого простых мобильных генетических элементов новых сложных детерминант множественной устойчивости и раскрыт ряд механизмов, участвующих в их формировании.

## ФРАГМЕНТЫ ЭЛЕМЕНТА LINE КАК ПРЕДЕЛЬНЫЙ СЛУЧАЙ ДОМЕСТИФИКАЦИИ ТРАНСПОЗОНОВ.

Подгорная О<sup>1,2,3</sup>, Соловьева А<sup>1</sup>, Адонин Л<sup>1</sup>, Остромышенский Д<sup>1</sup>

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

2 – Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, Санкт-Петербург

3 - Дальневосточный федеральный университет, 690922, Владивосток

[opodg@yahoo.com](mailto:opodg@yahoo.com)

В эухроматической части большинства прочитанных геномов существует асимметрия в расположении элементов SINE и LINE, которые маркируют богатые и бедные генами районы. Результаты по анализу гетерохроматина мыши, полученные анализом ридов секвенирования ДНК хромоцентров, анализом клонов, полученных из этой ДНК и их гибридизацией на хромосомах, показывают, что хромоцентры обогащены ~2 т.п.н. фрагментом 3'-конца LINE. Картирование фрагментов LINE найденных в центромерах сборок двух хромосом человека на консенсус L1 из RepBase показало обогащение аналогичным ~2 т.п.н. фрагментом 3'-конца LINE. Именно этот фрагмент характерен для гетерохроматина человека и мыши. Мы назвали его Lfr\_htchrn (LINE fragment heterochromatin)

При изучении клоальной изменчивости партеногенетического поколения трематод столкнулись с той же тенденцией. Фрагменты, клонированные из консервативных зон содержали кодирующие части LINE-подобных элементов, в то время как фрагменты полиморфных зон – спейсерную часть. На хромосомах при FISH с клонированные фрагменты имеет разную локализацию. Зонд с частью открытой рамки считывания обратной транскриптазы элемента LINE распределен на хромосомах дисперсно. Зонд спейсерного района LINE тяготеет к гетерохроматиновым областям генома, субтеломерным и центромерным.

Транскрипция LINE импульсно возрастает в раннем развитии и коррелирует с образованием конститутивного гетерохроматина, т.е. хромоцентров. В развитии морского ежа от момента оплодотворения до стадии 32 бластомеров происходит взрывное увеличение транскрипции элементов класса LINE, причем именно того же Lfr\_htchrn. Транскрипция некоторых частей ДНК-транспозонов и транспозонов класса LTR также характерна для отдельных стадий развития. Вероятно, отдельные фрагменты транспозонов приспособлены для нужд организма и локализованы в соответствии с выполняемыми функциями. Для случая LINE-подобных элементов определен Lfr\_htchrn, прослежена его локализация и транскрипция в корреляции с образованием хромоцентров от млекопитающих до беспозвоночных.

Работа выполнена при поддержке гранта МКБ президиума РАН.

## СИМБИОТИЧЕСКИЕ ХЛОРЕЛЛЫ, ИХ ВИРУСЫ И ХОЗЯЕВА - ИНФУЗОРИИ *PARAMECIUM BURSARIA*: КОЭВОЛЮЦИЯ В ТРОЙНОЙ СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ

Раутиан М.С.<sup>1</sup>, Белявская А.Я.<sup>1,2</sup>, Киселев А.Д.<sup>1,3</sup>

1. Saint-Petersburg State University; Universitetskaya emb., 7/9; Saint-Petersburg, Russia. 2. Institute of Integrative Biology, University of Liverpool, GBR. 3. University of Kiel, Germany  
[mrautian@mail.ru](mailto:mrautian@mail.ru)

Внутриклеточный симбиоз является одним из важнейших механизмов приобретения эукариотами новых биосинтетических возможностей. Поэтому проблема коэволюции партнеров в сложных симбиотических системах представляет несомненный частный, а также общебиологический интерес.

Инфузории *Paramecium bursaria* содержат в цитоплазме симбиотические хлореллы, которые в соответствии с филогенией, построенной по последовательности ITS1-5,8S-ITS2, по митохондриальному и хлоропластному геномам, а также по чувствительности к специфическим вирусам (PBCV – *Paramecium Bursaria ChlorellaVirus*) были отнесены к трем видам – *Chlorella variabilis*, *Ch. vulgaris* и *Micractinium reisseri* (*M. conductrix*).

Морфологический вид *Paramecium bursaria* включает пять морфологически неразличимых, но строго репродуктивно изолированных групп (сингенов). Ранее нами было показано, что на филогенетическом дереве, построенном по последовательности 18S рДНК, выявляются клады, соответствующие сингенам (сестринским или криптическим видам). Однако сведения о том, как соотносится биоразнообразие хозяев (парамеций) и их фотосинтезирующих симбионтов крайне ограничены.

Мы исследовали молекулярную филогению и географическое распространение симбиотических хлорелл на той же обширной коллекции клонов *P.bursaria*, которую использовали при анализе генетического разнообразия парамеций. В качестве молекулярного маркера для анализа хлорелл был выбран ген RuBisCo.

Полученные данные показывают, что наследственный симбиоз между *P.bursaria* и фотосинтезирующими симбионтами устанавливался независимо по крайней мере трижды. Последний раз это произошло до дивергенции сингенов R1 и R2. Мы предлагаем эволюционную стратегию, объясняющую специфичность и географическое распространение данной симбиотической системы.

Работа выполнена при поддержке РЦ «Молекулярные и клеточные технологии» и РЦ «Культивирование микроорганизмов».

## ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ РОЛИ НЕКОДИРУЮЩЕЙ ДНК В ЭНДОГЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОМА

Шкурат Т.П.

Южный Федеральный Университет, Россия, Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1.344090

[tshkurat@labnauka.ru](mailto:tshkurat@labnauka.ru)

Существуют различные гипотезы, модели и теории, касающиеся организации и деятельности генома. Однако механизмы взаимодействия его отдельных элементов остаются до сих пор до конца не выясненными. Вопрос о закономерностях организации генома и роли некодирующей ДНК в процессе эндогенной регуляции генов для конкретных физиологических функций остаются в значительной степени не изученными.

Для исследования было отобрано 36 видов млекопитающих, с эволюционно закрепленными физиологическими признаками – вес, рост, продолжительность жизни, возраст достижения половой зрелости, число одновременно созревающих доминантных фолликулов. Эти признаки у различных видов млекопитающих существенно отличаются. Например, масса тела взрослых млекопитающих регистрируется в диапазоне, начиная от 1.5 г у *Suncus etruscus* и до 150 т у *Balaenop teramusculus*. В цис- регуляторных районах генов гормонов соматотропной оси и гипофизарно-гонадной оси исследовали ландшафт размещения в геноме функциональных элементов некодирующей ДНК, как потенциальных источников способных перестраивать регуляторную сеть для конкретных физиологических функций. Сравнение участков геномов различных животных проводилось посредством построения и анализа точечной матрицы гомологий с помощью разработанной программы dotolog, поиск мотивов функциональных элементов с помощью программы mscanner [1]. Проведено попарное сравнение геномных последовательностей окрестностей каждого из исследуемых генов у выбранных видов млекопитающих с геномной последовательностью окрестности соответствующего гена человека.

Выявлены определенные закономерности в локализации функциональных элементов некодирующей ДНК в геномах млекопитающих и показателями морфофизиологических признаков у различных видов.

Показано, что у млекопитающих существует значимая корреляция между возрастом полового созревания, продолжительностью жизни вида и геномным расстоянием от гена до ближайшей теломеры для генов *Ghrh* ( $rs = 0.76$ ,  $p = 0.01$ ) и *Sst* ( $rs = -0.72$ ,  $p = 0.04$ ).

[1] Романов Д.Е. , Ксёэнз Н.С. Программа для автоматического поиска мотивов в последовательности ДНК «mscanner» // Свидетельство о госрегистрации программы ЭВМ №2016663454 от 25.11. 2016 г.

**Благодарности:** Исследование выполнено в рамках гранта Минобрнауки России № 6.6762.2017 БЧ.

## МАЖОРНЫЕ ГАПЛОГРУППЫ И ВЛИЯНИЕ ПОПУЛЯЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ НА ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ

Балинова Н.В.<sup>1</sup>, Спицына Н.Х.<sup>2</sup>, Джаубермезов М.А.<sup>3</sup>, Зинченко Р.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБГНУ «Медико-генетический научный центр», Россия, Москва, Москворечье, 1;

<sup>2</sup>Институт этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая РАН, Россия, Москва Ленинский проспект, 32а; <sup>3</sup>Башкирский государственный университет. Кафедра генетики и фундаментальной медицины, Уфа, ул.Заки Валиди, 32

[balinovs@mail.ru](mailto:balinovs@mail.ru)

Эволюция человека неразрывно связана с популяциями малой численности с присущими им эффектами инбридинга и дрейфа генов. В отличие от других видов популяции человека подвержены воздействию не только естественно-исторического, но и общественно-исторического процесса. Передача генетической информации в поколениях, ее распределение в пространстве расселения населения, изменение в ходе миграций, переселений, взаимодействий с окружающей средой - все эти движения генетического материала у человека связаны с демографическими процессами. Поскольку демографические и генетические процессы неразрывно связаны между собой и протекают одновременно, то любые колебания в динамике численности, соотношениях полов, а также типах браков, брачных кругах структуре родства и др. неизбежно сопровождаются соответствующими изменениями в генофонде популяции. В сообщении представлены, результаты исследования генетического разнообразия гаплогрупп Y-хромосомы калмыков которые показали, что подавляющее большинство индивидуумов принадлежит к гаплогруппе С (более 60%). Была идентифицирована новая ветка этой гаплогруппы С3с1b-F6379, которая сформировалась 1076-2111 лет назад на территории Центральной Азии и получила широкое распространение в популяциях калмыков и популяциях Западной Монголии. В субэтнических группах она распределилась следующим образом: калмыки дербеты – 21,7%; калмыки торгуды – 41,4%; калмыки бузава – 48,1%; калмыки хошуты – 50,0%; монголы дербеты – 50,0%; монголы торгуды – 29,8%; монголы хошуты – 66,7%. Коэффициент генетического разнообразия в популяциях составляет: калмыки дербеты – 0,83; калмыки торгуды – 0,79; калмыки-бузава – 0,74; калмыки-хошуты – 0,71; монголы-дербеты – 0,74; монголы-торгуды – 0,87; монголы-хошуты – 0,56. Если сравнивать с популяциями Южной Сибири, то у тувинцев коэффициент разнообразия в территориальных группах варьирует от 0,83 до 0,88, у северных алтайцев от 0,58 до 0,78, у южных алтайцев от 0,65 до 0,90, у телеутов составляет 0,74[1], [2], [3]. Необходимость объяснения присутствия мажорной гаплогруппы и сокращения популяционного разнообразия в результате дрейфа генов в истории популяции дает нам основание предполагать, что популяция проходила этап «бутылочного горлышка». Генетическое родство по отцовской линии подтверждает исторические сведения общности происхождения ойратов Монголии и калмыков еще в до Чингисхановское время. Первые упоминания об ойратах относятся к началу 13 века, когда складывалась Монгольская империя, но даже по самым скромным генетическим датировкам ойратская общность существовала уже как минимум 200 лет. Сохраняя свою субэтническую структуру и при Чингиз-хане, и после переселения на Волгу калмыки и по сей день сохраняют свою ойратскую составляющую патрилинейного наследования.

[1]. ХарьковВ.Н. и соавт, Структура генофонда тувинцев по маркерам Y-хромосомы. // 2013, Генетика, том 49 №12, С.1416-1425.

[2]. ХарьковВ.Н. и соавт, Различия структуры генофондов северных и южных алтайцев по гаплогруппам Y-хромосомы. // 2007Генетика, том 43 №5, С.675-687.

[3]. ХарьковВ.Н. и соавт, Сравнительная характеристика генофонда телеутов по данным маркеров Y-хромосомы. // 2009, Генетика, том 45 №8, С.1132-1142.

## PHYLOGENY AND PHYLOGEOGRAPHY OF SIBLING-SPECIES *SICISTA* OF BETULINA GROUP (RODENTIA, DIPODOIDEA) BASED UPON A SEQUENCING ANALYSIS OF *CYTB* GENE OF MITOCHONDRIAL AND *IRBP* GENE OF NUCLEAR DNA

Baskevich<sup>1</sup> M.I., Bogdanov<sup>2</sup> A.S., Potapov<sup>1</sup> S.G., Khlyap<sup>1</sup> L.A., Oparin<sup>1</sup> M.L., Sheftel<sup>1</sup> B.I.,  
<sup>3</sup>Stakheev V.V.

<sup>1</sup>Severtsov Inst. of Ecology and Evolution of RAS, 119071 Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Koltzov Institute of Developmental Biology of RAS, 119334 Moscow, Russia

<sup>3</sup>Institute of Arid Zones of SSC of RAS, 344006 Rostov-Don, Russia

[mbaskevich@mail.ru](mailto:mbaskevich@mail.ru)

For specification of phylogenetic relationships and phylogeography of sibling-species *Sicista* of the betulina group (*S. betulina*, *S. strandi*) sequences of fragments (903 bp) of *IRBP* gene of nuclear and *cytb* (1099 bp) gene of mitochondrial DNA in a number of selections of representatives of group with emphasis of attention on that of Eastern Europe has been studied. In *cytb* gene sequencing analysis 17 samples of *Sicista* of the betulina group from Novgorod, Tver, Moscow (are defined as *S. betulina*), and from Kursk, Saratov, Rostov regions and Kabardino-Balkaria (are defined as *S. strandi*) are used. In a sequencing analysis of *IRBP* gene the majority above the mentioned samples of *Sicista* sibling-species of betulina group in addition to samples of *S. betulina* from Krasnoyarsk Krai and Romania and also *S. strandi* from Luhansk are used (the nucleotide sequences of two the last are taken from Genbank). Methods of DNA extraction, amplification and sequencing of *cytb* and *IRBP* genes corresponded described earlier. For alignment and the analysis of the received sequences the software package of Sequence Navigator (Applied Biosystems) is applied and to the phylogenetic analysis software packages of MEGA5 (*cytb*) or Mega 6.06 (*IRBP*) are used. At construction of dendrograms and calculation of genetic distances (*D*) NJ, UPGMA (*cytb*) and ML (*IRBP*) algorithms are used. The received molecular results indicated to exact interspecific differences between *S. betulina* and *S. strandi* with the high level of bootstrap-support. As for intraspecific structure, among the studied selections of *S. betulina* the isolation on the nucleotide sequences of *cytb* gene of mtDNA of samples from the Novgorod Region (the North of Valdai) has been marked. Whereas on those of *IRBP* gene of nuclear DNA, samples of a species from the North of Valdai are clustered with other samples from Eastern Europe in addition to that of from Siberia (Krasnoyarsk Krai), differing only from the sample from Romania which forms a separate cluster on the constructed by us ML tree. On the same tree (*IRBP*) the separation of *S. strandi* on northern (Kursk Region) and southern (Kabardino-Balkaria) groups has been marked, the last is adjoined by a sample from Luhansk in Ukraine. According to another group of molecular (*cytb*) data the separation of studied samples of *S. strandi* on two clusters: northern (Kursk, Saratov) and southern (Rostov, Kabardino-Balkaria) is also tracked.

The work was supported by RFBR (№ 16-04-00032)

## УРБАНИЗАЦИЯ И ДОМЕСТИКАЦИЯ

Брагин А.О., Чадаева И.В., Суслов В.В., Орлов Ю.Л.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090*

*ibragim@bionet.nsc.ru*

Доместикация (Д.) – отбор животных на стрессоустойчивость жизнью с человеком: он поддерживает их популяцию, но встреча с ним – стрессор. Так, опыт Беляева по Д. лис, норок, крыс включал клеточное разведение и индивидуальный отбор на агрессию или дружелюбие к человеку. Последний отбор дал наследственный гормональный сдвиг, дестабилизирующий фенотип: возникли пегости, упала четкость возрастной хронологии онтогенеза, вскрылась генетическая изменчивость, параллельная домашним [1], но не диким видам. Урбанизация (У.) – отбор на стрессоустойчивость, но самостоятельной жизнью в общей с человеком изменчивой среде города: годные к размножению биотопы типа природных существуют недолго, малы (вплоть до отдельных деревьев), изолирующие их стрессогенные урболандшафты растут, непредсказуемо меняясь, корм чаще именно в них, а партнеры-конспецифики – за ними. Разные виды-урбофилы, чьи популяции устойчивы в городе, имеют гены-кандидаты У. – SERT, DRD4, ADCYAP1, слабые гормоно- и хронодвижки, рост дружелюбия к человеку, параллелизмы между урбофилами [2] без дестабилизации фенотипа и роста изменчивости. Итак, У. – ранний этап Д. или разные процессы? Так, гормоно- и хроносдвиг объясним и свето/теплозагрязнением города, размывающим биоритмы.

В RNA-seq мозга крыс-доместикантов и крыс с агрессией к человеку мы искали гены с дифференциальной экспрессией. У SERT, DRD4, ADCYAP1 дифэкспрессии нет. Гены с дифэкспрессией связаны в основном с общей активностью/метаболизмом мозга, а DRD4, ADCYAP1 – гены приоритезации внимания (ранжировка раздражителей – и человека! – по важности, сохранение их в кратковременной памяти, переоценка с изменением среды), SERT – ген серотонинового наркоза, снижающего тревожность, что бы ее ни вызвало (в т.ч. поиск/недостаток данных по оценке среды). Отсюда Д. и У. – разные пути эволюции. Оба повышают стрессоустойчивость, но Д. – глобальной перестройкой регуляции мозга и коррелятивно – онтогенеза, У. – локально, улучшая оценку/пользование среды, что не оценено в опыте Беляева. Тогда характерный параллелизм с низкой изменчивостью урбофилов проще объяснить схемой популяций-полуизолятов Вавилова [3], но с отбором на пересечение границ.

[1]. Трут Л.Н., Доместикация животных в историческом процессе и в эксперименте. // 2007, Вестн. ВОГиС, Т.11, №2, С.273-289.

[2]. Garroway C.J., Sheldon B.C. Urban behavioural adaptation. // 2013, Mol Ecol., V.22, P.3430-3432.

[3]. Вавилов Н.И., Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. Л.: Наука, 1987, 256 с.

## МЕХАНИЗМЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДОМСТИКАЦИИ ЛИСИЦ: ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСКРИПТОМА И МЕТИЛОМА ГИППОКАМПА

Гербек Ю.Э., Генаев М.А., Васильев Г.В., Александрович Ю.В., Ощепков Д.Ю.,  
Бабенко В.Н., Мейстер Л.В., Игнатъева Е.В., Шепелева Д.В., Шихевич С.Г., Гулевич  
Р.Г., Харламова А.В., Афонников Д.А., Трут Л.Н.

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 10  
[herbek@bionet.nsc.ru](mailto:herbek@bionet.nsc.ru)

Поведение, по утверждению Э. Майра, часто (а может быть, и всегда) служит «лидером» в процессе эволюции [1]. Одной из признанных моделей эволюционного процесса доместикиции животных является эксперимент по одомашниванию лисиц. Важнейший результат этого эксперимента – коренная модификация поведения, которая сопровождалась различными морфофизиологическими изменениями.

Целью данной работы являлось выявление молекулярно-генетических механизмов модификации поведения доместицированных (ручных) лисиц, касающихся изменения экспрессии генов и метилирования ДНК. Были исследованы образцы дорзального гиппокампа ручных и агрессивных лисиц методами высокопроизводительного секвенирования RNA-seq (n=4 в каждой группе) и RRBS (n=5 в каждой группе). Полученные данные были выборочно верифицированы ПЦР-РВ на независимых выборках.

В результате выявлено 52 дифференциально экспрессирующихся гена, из которых 4 (*CYP26B1*, *ITGA2*, *PTS* и *VTCN1*) лежат в регионах генома, предположительно подвергнутых давлению отбора (selective sweep regions) [2]. Анализ метиломов обнаружил 40 дифференциально метилирующихся регионов (ДМР) и 1479 локусов (ДМЛ). В частности, в 3' направлении от *CYP26B1* обнаружен ДМЛ, который лежит на конце сильной консенсусной последовательности сайта связывания фактора транскрипции С/ЕВРβ. Вероятно, у агрессивных лисиц связывание С/ЕВРβ с ДНК ингибировано, тогда как у ручных животных энхансер может участвовать в регуляции транскрипции *CYP26B1*. Известно, что этот ген кодирует фермент, деградирующий ретиноевую кислоту, являющуюся регулятором нейрогенеза и миграции клеток нервного гребня. Нейрогенез в гиппокампе у взрослых ручных лисиц повышен относительно неселекционированных и агрессивных животных, что может быть ассоциировано с изменениями поведения и памяти.

Таким образом, обнаружен устойчивый ген-кандидат *CYP26B1* и предложен один из механизмов изменения поведения в процессе экспериментальной доместикиции, который, кроме того, может иметь широкий плейотропный эффект в раннем развитии, влияя не только на изменение ювенильного нейрогенеза, но и на формирование морфофизиологических признаков доместикиции в эмбриогенезе.

[1]. Майр Э. Эволюция. // М.:1981, Эволюция, С.11-31.

[2]. Kukekova A.V. et al., Red fox genome assembly identifies genomic regions associated with tame and aggressive behaviours. // 2018, Nat. Ecol. Evol, V.2, P. 1479-1491.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при частичной поддержке РФФ (грант №16-14-10216) и бюджетного проекта №0324-2019-0041.

## НОВЫЕ ДАННЫЕ ПО ЦИТОГЕНЕТИКЕ КЛОПОВ-КРУЖЕВНИЦ (TINGIDAE, HETEROPTERA, INSECTA)

Голуб Н.В.<sup>1</sup>, Голуб В.Б.<sup>2</sup>, Кузнецова В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Зоологический институт РАН, Россия, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб.1;

<sup>2</sup>Воронежский государственный университет, Россия, Воронеж, 394006 Университетская пл., 1

[nvgolub@mail.ru](mailto:nvgolub@mail.ru)

До начала наших исследований, эволюционно продвинутое семейство клопов Tingidae (инфраотряд Cimicomorpha) считалось кариотипически высоко консервативным, хотя данные имелись лишь для 29 видов из 18 родов (из известных 2600 видов и 270 родов). Для подавляющего большинства видов был описан кариотип с  $2n=12A+XY/XX$  и только для единичных видов – с  $2n=12A+X0/XX$ . Методом С-бэндинга были выявлены незначительные межвидовые различия по количеству и распределению в хромосомах С-блоков.

К настоящему времени число изученных видов Tingidae достигло 48, родов – 22, а применение метода FISH позволило выявить новые хромосомные маркеры, что особенно ценно, так как тингиды имеют голокинетические хромосомы. У 41 вида (8 родов)  $2n=12A+XY/XX$ , у остальных (4 рода) –  $2n=12A+X0/XX$ . Стабильность числа аутосом позволяет предположить, что это число групп сцепления поддерживается стабилизирующим отбором. Эволюционно исходный у тингид механизм XY заменяется механизмом X(0) в 4 родах.

18S рДНК FISH выявил 4 варианта локализации сайтов рибосомных генов: (1) на X-хромосоме; (2) на X и Y-хромосомах; (3) на одной/двух парах аутосом; (4) на X-хромосоме и одной паре аутосом. По этому признаку могут отличаться виды одного рода с одинаковым числом хромосом; сайты рибосомных генов служат ценным маркером для идентификации отдельных хромосом в кариотипе, а изменчивость в их локализации говорит о произошедших хромосомных перестройках.

В хромосомах тингид нет теломерной последовательности TTAGG, т.н. “insect” мотива теломер. Известно, что он отсутствует также в других семействах Cimicomorpha (за исключением Reduviidae) и Pentatomomorpha. Предполагается, что анцестральный для насекомых мотив (TTAGG)<sub>n</sub> был утерян у общего предка этих сестринских инфраотрядов, и заменен какой-то другой последовательностью или другим механизмом, поддерживающим стабильность теломер, в эволюционно молодом семействе Reduviidae он возник вторично.

Работа выполнена в рамках гос. темы № АААА-А17-117030310018-5 при поддержке грантов РФФИ № 17-04-00828-а и 18-04-00464-а и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем» (подпрограмма «Генофонды живой природы и их сохранение»).

## АРХИТЕКТУРА АЛГОРИТМА ПО ПЕРЕНОСУ МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ МЕЖДУ ВИДАМИ НА ОСНОВЕ ДАННЫХ NGS-СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Крупин П.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, Россия, Москва, <sup>2</sup>ФГБНУ ВНИИСБ

[pavel-krupin@yandex.ru](mailto:pavel-krupin@yandex.ru)

Развитие технологий NGS-секвенирования открывает широкие перспективы по изучению филогенетических связей между видами. Перенос значительной части исследований в среду *in silico* позволяет значительно ускорить лабораторные исследования. Создание молекулярных и молекулярно-цитогенетических маркеров на основе данных о репитоме и, прежде всего, tandemных повторов, даёт надёжный инструмент для исследования филогенетических связей и модификаций генома в результате естественного или искусственного отбора [1-3]. Нами предлагается следующий алгоритм поиска tandemных повторов в одном виде (вид-донор) и перенос его для исследования близкородственных диплоидных или аллополиплоидных видов (вид-мишень). 1) Отбор *de novo* tandemных повторов на основе полногеномного NGS-сиквенса вида-донора с использованием программы Tandem Repeat Finder; 2) Сравнение полученных повторов с уже опубликованными, отбор уникальных; 3) Разработка праймеров на выравненных последовательностях мономеров повторов или синтез зондов, если размер мономера слишком мал для праймеров; 4) Полимерная цепная реакция с подобранными праймерами и электрофорез; отбор повторов с чёткой амплификацией целевого продукта; 5) Определение относительной копийности повторов с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). 6) Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) на препаратах митотических хромосом вида-мишени с меченым ПЦР-продуктом, либо с синтезированным меченым зондом. Определение локализации повторов на хромосомах и их копийности по интенсивности свечения метки. 7) Последовательный FISH с несколькими метками на одних и тех же препаратах после отмычки для определения совместной локализации повторов. В качестве вида-донора нами использовался вид *Ae. tauschii* (DD), в качестве вида-мишени – гексаплоидная тритикале сорта Соловей Харьковский (AABBRR). В результате отбора посредством алгоритма нами выбрано 11 tandemных повторов *Ae. tauschii*: три повтора локализованы на субгеномах A, B и R; один локализован на субгеномах A и B, на субгеноме R сигнала не выявлено; пять повторов не были локализованы ни на одном из субгеномов гексаплоидной тритикале и мягкой пшеницы; два повтора так же не были локализованы на хромосомах тритикале, однако FISH на хромосомах мягкой пшеницы (ABD) показала наличие сигнала этих повторов на хромосомах субгенома D. Таким образом, нами разработан и апробирован алгоритм, позволяющий создавать маркеры для одного вида на основе сиквенсов родственного ему вида. **Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-04- 01871а.

[1]. Kroupin P.Yu., Divashuk M. G., Fesenko I.A., Karlov G. I. Evaluating Wheat Microsatellite Markers for the Use in Genetic Analysis of *Thinopyrum*, *Dasypyrum*, and *Pseudoroegneria* Species // 2013, Dataset Papers in Biology, Vol. 2013, P. 1-3.

[2]. Salina E. A., Adonina I.G., Badaeva E.D., Kroupin P.Yu., Stasyuk A.I., Leonova I.N., Shishkina A.A., Divashuk M.G., Starikova E.V., Khuat T.M.L., Syukov V.V., Karlov G.I. A *Thinopyrum intermedium* chromosome in bread wheat cultivars as a source of genes conferring resistance to fungal diseases // 2015, Euphytica, 20 (1), P. 91–101.

[3]. Divashuk M.G., Khuat T.M. L., Kroupin P.Yu., Kirov I.V., Romanov D.V., Kiseleva A.V., Khrustaleva L.I., Alexeev D.G., Zelenin A.S., Klimushina M.V., Razumova O.V., Karlov G.I. Variation in Copy Number of Ty3/Gypsy Centromeric Retrotransposons in the Genomes of *Thinopyrum intermedium* and Its Diploid Progenitors // 2016, PLoS One, 11(4), e0154241

## ГОМЕОБОКСНЫЕ ГЕНЫ НА РЕГУЛЯТОРНОМ ПЕРЕКРЁСТКЕ: ЧТО ИЗ НОВОГО – ХОРОШО ЗАБЫТОЕ СТАРОЕ?

Остен В.Г., Кулакова М.А.

СПбГУ, Россия, Санкт-Петербург, Ораниенбаумское шоссе, 2

vova00896@mail.ru

Гомеобокс-содержащие гены из суперкласса ANTP (кластерные Нох-гены, ParaНох-гены, НК-гены) контролируют осевую регионализацию зачатков тела и определяют план организации современных Bilateria. Эволюционный этап, на котором возникла координированная транскрипция этих кластеров и способ, при помощи которого это осуществлялось, отправляет нас к старой дискуссии об уровне организации последнего общего предка билатеральных животных. Эти гены имеют очень сложную транскрипционную регуляцию. В случае позвоночных животных она реализуется за счёт совместной работы нескольких сигнальных путей, важнейшие из которых – Wnt, RA и FGF. Насекомые (*Drosophila*, *Tribolium*) не используют сигнальный путь RA (Retinoic acid) для контроля транскрипции гомеобоксных генов и многие важные компоненты этого пути отсутствуют в их геномах. Основной способ контроля над генами ANTP у членистоногих и нематод осуществляется за счёт специфичных транскрипционных факторов, самые изученные из которых – Gap-гены *Drosophila*. Чтобы разобраться в том, какой тип регуляторных отношений существовал исходно, а какой возник *de novo* в отдельных линиях Bilateria, необходимы новые модельные животные. Одна из перспективных моделей – полихета *Platynereis dumerilii*. Известно, что в геноме этой полихеты присутствуют все основные гены, кодирующие элементы сигнальных путей Wnt и RA. При помощи фармакологических модуляторов, которые усиливают или прерывают сигнальные пути на разных этапах трансдукции, мы проанализировали паттерны транскрипции Нох- и ParaНох-генов у *P. dumerilii*. Кроме того, мы исследовали влияние одного сигнального пути (RA) на транскрипцию компонентов другого (Wnt) для того, чтобы сравнить полученную картину с уже известной для ортологичных генов позвоночных. Мы обнаружили, что у личинки полихеты транскрипционные границы Нох-генов не смещаются при воздействии экзогенной ретиноевой кислоты или её ингибиторов, что хорошо согласуется с недавно опубликованными данными [1], однако в период постларвального роста Pdu Нох-гены и ParaНох-ген *PduCad* становятся чувствительны к модуляции Wnt- и RA-сигналинга. Наши данные указывают на достоверную разницу между способами регуляции одних и тех же генов на двух этапах онтогенеза полихеты, что может свидетельствовать о сочетании двух принципов регуляции у последнего общего предка первичноротых и вторичноротых животных, и дальнейшей независимой эволюцией этих путей с утратой отдельных компонентов в разных таксонах.

[1]. Handberg-Thorsager M. et al., The ancestral retinoic acid receptor was a low-affinity sensor triggering neuronal differentiation. // 2018, Sci. Adv., V.4, P.1-16.

Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ 18-04-00450 а и 14-04-01531 а

## АНТИРЕСТРИКЦИОННЫЕ БЕЛКИ СЕМЕЙСТВА Ard: СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ И РОЛЬ В ГОРИЗОНТАЛЬНОМ ПЕРЕНОСЕ ГЕНОВ.

Мелькина О. Е.<sup>1</sup>, Котова В. Ю.<sup>1</sup>, В. П. Балабанов<sup>1</sup>, А. А. Кудрявцева<sup>2</sup>, И. В. Манухов<sup>2</sup>, Завильгельский Г. Б.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>) НИЦ "Курчатовский институт" – ГосНИИ Генетика, Москва 117545,

<sup>2</sup>) Московский физико-технический институт, Долгопрудный, 141700.

Белки семейства Ard (A, B, D) кодируются генами, расположенными в мобильных элементах (конъюгативные плазмиды, транспозоны, умеренные бактериофаги) и специфически ингибируют ферменты рестрикции-модификации типа I, способствуя преодолению рестрикционных барьеров, и тем самым обеспечивают эффективный горизонтальный перенос генетического материала (ГПГ) между бактериями различных видов и родов.

Белки ArdA (165-170 а.к., суммарный заряд -25 - -32) относятся к семейству ДНК-мимикрирующих белков. В форме гомодимера (ArdA)<sub>2</sub> ингибирует как рестрикционную, так и модификационную активности ферментов типа I, в форме мономера ArdA ингибирует лишь рестрикционную активность ферментов. Белки ArdB/KlcA (140-150 а.к., суммарный заряд -5 - -7) ингибируют лишь рестрикционную активность ферментов типа I, причем только *in vivo*. В растворе эти белки формируют уникальную пространственную структуру в виде тетраэдра. На поверхности глобулы расположены консервативные полярные а.к. (D141, E32, N77, E132), замена которых на А резко снижает ингибиторную активность белка. Показано, что наличие в конъюгативных плазмидах генов *ardB/klcA* способствует распространению антибиотик-резистентности среди патогенных бактерий рода *Klebsiella*. Белки ArdD (140-150 а.к.) кодируются генами, расположенными в не-конъюгативных транспозонах (Tn21, Tn402, Tn501, Tn5045, Tn5053), и примерно в 50–100 раз снижают рестрикционную активность ферментов типа I. Ген *ardD* расположен внутри гена *tniA* в комплементарной нити. Транскрипция гена *ardD* противоположна транскрипции гена *tniA*. Показано, что антирестрикционная активность ArdD зависит от протеолитической активности протеазы ClpXP.

Белки ArdA, помимо антирестрикционной активности, обладают способностью ингибировать репрессорную активность гистон-подобного белка H-NS. Показано, что экспрессия H-NS-зависимых генов в бактериальной клетке значительно усиливается как при наличии гена *ardA* в мультикопийном векторе, так и при конъюгативном переносе плазмиды, содержащей ген *ardA*. В результате белки ArdA не только обеспечивают преодоление рестрикционного барьера, но и способствуют быстрой и эффективной экспрессии генов, переносимых в процессе ГПГ.

## О ПОЛОЖЕНИИ ПОДТРИБЫ COLEANTHINAE В СЕМЕЙСТВЕ POACEAE – НОВЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Носов Н. Н.<sup>1</sup>, Гнутиков А. А.<sup>1,2</sup>, Е. О. Пунина<sup>1</sup>, Н. С. Пробатова<sup>3</sup>, Родионов А. В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Россия, Санкт-Петербург, 197376, ул. Профессора Попова, 2

<sup>2</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток  
[nosov2004@mail.ru](mailto:nosov2004@mail.ru)

*Coleanthus subtilis* (Tratt.) Seidl – это уникальный злак-эфемер, произрастающий в Евразии и Северной Америке. Отличительной особенностью *C. subtilis* является то, что он появляется и исчезает в одних и тех же местах после долгих промежутков времени. Например, в Новгородской области он считался вымершим с 1929 г. до того, как был найден в 2001 г [1]. Это злак – первичный диплоид с  $2n=14$  и, по всей видимости, довольно древний.

Его филогенетическое положение в системе злаков также заслуживает внимания. Ранее он считался родственным роду *Agrostis* (*Aveneae*) из-за одноцветковых колосков, но впоследствии оказался родственным родам *Phippsia* и *Puccinellia* (*Poeae* s. str.). Н. Н. Цвелёв предположил, что *C. subtilis* участвовал в формировании арктического полиплоидного рода *Phippsia* [2]. Поэтому родственной роду *Coleanthus* считается вся большая группа родов, включающая *Puccinellia*, *Paracolpodium*, *Catabrosa* и др. [3]. Теперь она называется подтриба *Coleanthinae*. Ранее эти таксоны рассматривались как родственные р. *Poa*. Кроме того, к подтрибе *Coleanthinae* относили и двуххромосомные злаки – *Zingeria* и *Colpodium* [3]. В целом, объем подтрибы до сих пор до конца неясен, а молекулярно-филогенетическим методом изучены только образцы *Coleanthus* из Германии и Канады. Наше целью было максимально точно прояснить родственные связи между р. *Coleanthus* и другими родами трибы *Poeae* s. str. основываясь на молекулярно-филогенетических данных. Мы использовали последовательности ITS1-гена 5.8S рРНК-ITS2 ядерного генома и trnL-trnF хлоропластного. Наши данные подтверждают хорошую обособленность подтрибы *Coleanthinae* от других таксонов трибы *Poeae* s. str. Молекулярно-филогенетический анализ подтверждает предположение, что арктические тетраплоиды рода *Phippsia* ( $2n=28$ ) получили материнский геном от диплоидного *C. subtilis* или родственного вымершего вида. Тем не менее, представители *Phippsia* и *C. subtilis* имеют различное положение внутри общей клады *Coleanthus* + *Phippsia*. Также по нашим данным остальные роды из подтрибы *Coleanthinae* образуют хорошо поддержанные монофилетические клады. Они достаточно далеко отстоят как от мятликов (род *Poa*) с которыми ранее сближались, так и от клады базальных *Poinae* (*Arctophila*, *Dupontia*). Двуххромосомные злаки (*Zingeria*, *Colpodium* s. str.) не объединяются с подтрибой *Coleanthinae* по результатам нашего анализа. Вероятно, подтриба *Coleanthinae* в действительности достаточно древняя и эволюционировала от предковых *Poeae*, не родственных кладе, включающей *Poa* s. str.

[1]. Юрова Е. А. Флористические находки в Новгородской области. // 2001, Бот. журн., Т. 86, С. 154 – 155. [2]. Цвелёв Н. Н. О происхождении арктических злаков (*Poaceae*). // 1976, Бот. журн., Т. 61, С. 1354–1363. [3]. Hoffmann M. H., Schneider J., Hase P., Röser M. Rapid and recent world-wide diversification of 366 bluegrasses (*Poa*, *Poaceae*) and related genera. // 2013, PLoS ONE, V. 8, P. 1–9.

**Благодарности:** Работа выполнена в лаборатории биосистематики и цитологии БИН РАН по госзаданию № 01201255614 при финансовой поддержке РФФИ № 17-00-00337 на оборудовании Центра коллективного пользования БИН РАН.

## БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ФЕНОМЕНА ХРОСОМ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК

Сайфитдинова А.Ф.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная 7-9; <sup>2</sup>Российский государственный педагогический университет им А.И.Герцена, Россия, Санкт-Петербург, набережная реки Мойки, д.48  
[saifitdinova@mail.ru](mailto:saifitdinova@mail.ru)

Гаметогенез у представителей самых разных систематических групп животных характеризуется преобразованием хромосом в специализированные структуры, по виду напоминающие бутылочные ёршики, или ламповые щетки (ЛЩ). Это сходство обусловлено высокой степенью деспирализации хроматина и присутствием вдоль хромосомной оси большого числа латеральных петель, ассоциированных с многочисленными транскриптами и белками аппарата транскрипции и редактирования РНК. Высокая степень деконденсации, наряду с сохранением осевой структуры хромосом, делает ЛЩ уникальным модельным объектом, однако природа и биологическое значение феномена ЛЩ до сих пор остаются загадкой. Различные этапы оогенеза сопровождаются накоплением полиаденилированной РНК в виде гетерогенных ядерных РНП частиц, а также запасанием рибосом. На основании морфологических исследований долгое время было принято считать, что транскрипция достигает своих максимальных значений именно в диплотене первого деления мейоза на стадии ЛЩ [1]. Однако, исследование РНК из ядер ооцитов амфибий методом массового параллельного секвенирования не выявило интенсивной транскрипции и присутствия мРНК в составе ядер [2]. Данные картирования уникальных и повторяющихся последовательностей ДНК на ЛЩ птиц, а также исследование динамики включения предшественников синтеза нуклеиновых кислот свидетельствуют о том, что запасание в ооплазме РНП происходит за счет деятельности фолликулярных клеток, а транскрипты на ЛЩ нельзя рассматривать как источник РНК для развития будущего эмбриона у птиц. Покрытые транскриптами латеральные петли формируются в районах локализации последовательностей, которые в соматических клетках входят в состав гетерохроматина. В ходе гаметогенеза происходит эпигенетическое ремоделирование генома, что приводит к активации транскрипции в этих районах, в том числе мобильных элементов, и может иметь катастрофические последствия. В диплотене профазы первого деления мейоза происходит блокировка такой транскрипции с накоплением РНК, что приводит к формированию на хромосомах морфологически выраженных латеральных петель. Помимо защиты наследственной информации от значительных повреждений, эти структуры становятся объектом для локального повышения уровня ко-транскрипционного мутагенеза. Это может объяснить широкое распространение ЛЩ в природе.

[1]. Davidson EH. Gene Activity in Early Development. 3rd ed. 1986, 670 pp. Academic Press: Orlando, FL.

[2]. Gall J.G. Transcription in the *Xenopus* oocyte nucleus. In: *Xenopus Development* (ed. Kloc M and Kubiak J) 2014, pp. 3-15. Wiley: New York.

**Благодарности:** Настоящее исследование было поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 16-04-01823а). Для выполнения исследования было использовано оборудование ресурсного центра ЦКП «Хромас».

## ФИЛОГЕОГРАФИЯ ХАРИУСОВ ЕВРАЗИИ ПО ДАННЫМ ИЗМЕНЧИВОСТИ СУТ В МТДНК

Слынько<sup>1</sup> Ю.В., Скопец<sup>2</sup> М. Б., Скворцова<sup>3</sup> Е.Г., Филиппинская<sup>3</sup> О.В., Слынько Е.Е.<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН, РФ, Севастополь, Нахимова 2; <sup>2</sup>ФГБУН Институт биологических проблем Севера ДВО РАН, РФ, Магадан;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Ярославская государственная сельскохозяйственная академия, РФ, Ярославль;

<sup>4</sup>ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, РФ, Борок

[yslynko@mail.ru](mailto:yslynko@mail.ru)

По мнению Л.С. Берга [1] монотипическое семейство Хариусовых имеет циркумлярное происхождение. Эта точка зрения долгое время поддерживалась отечественными ихтиологами. В частности схожих взглядов придерживались и придерживаются наши выдающиеся ихтиопалеонтологи В.Н. Яковлев и Е.К. Сычевской. Ими была сформулирована гипотеза арктического и амфибореального происхождения ихтиофауны всей Южной Сибири и Центральной Азии. Иной взгляд был впервые высказан Световидовым [2] и решительно поддержан Никольским [3]: подавляющее большинство рыб, как южной Сибири в частности, так и всей Евразии имеют китайское равнинное и предгорное происхождение. В значительной степени это воззрение получило поддержку в ходе изысканий наших современных ихтиологов, И.Б. Книжина (2009) и С.В. Шедько (Шедько и др., 2013), в том числе с привлечением молекулярно-генетических данных. В том числе указывалось, что куст южно-азиатских хариусов, включая байкальскую группу, сформировался в миоцене. Таксономическое разнообразие хариусов в водоемах саяно-алтайского нагорья и бассейне р. Амур, а также палеогеографические данные, свидетельствует о том, что данные регионы являются центрами их происхождения и последующего расселения в водоемах Голарктики. Предполагается, что расселение хариусов в реках Евразии происходило в голоцене (150 -10 тысяч лет) по цепи подпрудных водоемов вдоль ледовых щитов с востока на запад. По данным изменчивости гаплотипов гена *сут b* мтДНК длиной 854 п.н. установлено, что семейство хариусовых имеет монофилитическое происхождение. Предполагаемым предком целесообразно считать бурейнского хариуса, дивергировавшего от анцесторной группы лососевых (вальки) в середине миоцена. Центр происхождения расположен на территориях Северо-Восточной Монголии, Северо-Восточного Китая и Российской части верхнего Амура. Расселение хариусов происходило в северном, северо-восточном и в западном направлениях. Подтверждается, что основные потоки расселения хариусов происходили в голоцене, в том числе освоение Европы и Северной Америки. Проведено изучение параметров генетической изменчивости у основных видов хариусов. Установлено, что наибольшими показателями генразнообразия и наибольшим количеством мутаций характеризуется восточно-сибирский, сибирский и европейский хариусы, что согласуется с трендами их расселения и сравнительно поздней таксономической дивергенцией.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гос. заданий по теме «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана» (гос. рег. № АААА-А18-118020890074-2) и темы «Фауна, систематика и биология водных беспозвоночных континентальных вод» (гос. рег. № АААА-А18- 118012690105-0)

[1] Берг Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. // 1949. М.-Л.: Изд-во АН СССР, т.3, с.930-1370.

[2] Световидов А.Н. Европейско-азиатские хариусы.// 1936. Тр. ЗИН АН СССР, т. 3, 183-301.

[3] Никольский Г.В. Рыбы бассейна Амура.// 1956. М.: Изд-во АН СССР, 551 с

## К ВОПРОСУ О ПРОИСХОЖДЕНИИ, ЭВОЛЮЦИИ И РАЗВИТИИ ОДНОПОЛОГО ЦВЕТКА

Солдатова О.П.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

[osol@mail.ru](mailto:osol@mail.ru)

Одним из факторов эволюционного успеха цветковых растений является пластичность и разнообразие половых типов, среди которых преобладают гермафродитные виды, а доля с однополым цветком составляет ~ 20%, включая однодомные, двудомные и полигамные виды, охватывающие до 75% семейств. Почти все половые типы обнаружены в родах *Rumex* и *Silene* с различными пол-детерминирующими механизмами и системами половых хромосом (ПХ), что дает возможность решения ряда вопросов в генетике развития и эволюционной биологии. ПХ растений проявляют сходство с животными, у которых есть система ХО. Если и у растений будет найдена система ХО, то это позволит считать эволюцию двудомности и однополого цветка (ОЦ) одним циклом с взаимобратными переходами. Происхождение ОЦ от гермафродитных предков подтверждено молекулярно-филогенетическими данными и консервативностью генов В и С классов. Выделяют два основных типа ОЦ: (I) цветки с редуцированными репродуктивными органами противоположного пола и (II) цветки в которых они отсутствуют, а их формирование включает две стадии - детерминацию и дифференцировку бипотенциальной флоральной меристемы. Детерминация пола цветка определяется действием фактора-переключателя, природа которого может быть генетической или фактором среды с эпигенетической компонентой. Генетические механизмы детерминации двудомных и трехдомных видов с ПХ представляют широкий спектр – это серия аллелей, siРНК, активная Yxp. с генами-кандидатами функцией супрессии развития плодолистиков, и так называемый тип-*Drosophila* (баланс X/A у *Rumex acetosa*). Однако, механизм на основе X/A доказан только для нематоды, в остальных случаях, как дрозофила, щавель и хмель можно говорить только о числе X хр. и, вероятно, о продуктах взаимодействия генов ПХ и аутосом как факторе детерминации. Эпигенетические механизмы у однодомных и гинодвудомных растений включаются на генеративной стадии и направлены на регуляцию градиента гиббереллина как у *Zea mays* или этилена как у *Cucurbita*. В отличие от различных механизмов детерминации, механизмы дифференцировки консервативны - в цветках I типа это регуляция клеточных делений после бипотенциальной стадии или апоптоз, в цветках II типа это регуляции генов с функцией В и С классов до или в момент инициации тычинок и плодолистиков. У *Silene latifolia* ОЦ I типа, но у большинства видов с ОЦ они двух типов, как у *Z.mays* и *R.acetosa*, а их координированная регуляция вероятно должна регулироваться механизмами клеточной памяти.

## ДИЦЕНТРИЧЕСКИЕ ХРОМОСОМЫ СКАЛЬНЫХ ЯЩЕРИЦ РОДА DAREVSKIA

Спангенберг В.Е.<sup>1</sup>, Аракелян М.С.<sup>2</sup>, Лелекова М.А.<sup>1</sup>, Коломиец О.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, 119991, Москва, ул. Губкина д.3

<sup>2</sup> Ереванский государственный университет, биологический факультет, Ереван, Армения  
[vspangenberg@gmail.com](mailto:vspangenberg@gmail.com)

Диплоидные партеногенетические виды скальных ящериц рода *Darevskia* исследуются более 40 лет. Четыре бисексуальных вида: *D. valentini*, *D. raddei*, *D. mixta*, и *D. portchinskii*, рассматриваются как родительские в процессах гибридного видообразования партеногенетических видов.

Настоящее исследование посвящено сравнительному исследованию мейотических хромосом (СК-кариотипов) и особенностей мейоза в сперматоцитах четырех родительских видов скальных ящериц. Это первое сравнительное исследование СК-кариотипов исследуемых видов с применением методов иммуоцитохимии и флуоресцентной *in situ* гибридизации.

Полученные нами результаты свидетельствуют об единообразии кариотипов всех четырех исследованных родительских видов скальных ящериц, что согласуется с ранее выдвинутой балансовой гипотезой происхождения партеногенетических видов.

Тем не менее, нам удалось обнаружить удивительную особенность кариотипа одного из четырех видов - *D. raddei*, который рассматривается как материнский как минимум для трех партеногенетических видов. Обнаруженное явление - присутствие в СК-кариотипах *D. raddei* от трех до девяти дицентрических хромосом, которые, тем не менее, имеют организацию, близкую к акроцентрической (две близкорасположенные центромеры: нативная и неоцентромера). Чрезвычайно близкое расположение нативной центромеры и неоцентромеры невозможно детектировать при исследовании метафазных митотических хромосом.

Нами не было обнаружено признаков инверсионных или дупликационных петель или нарушения синапсиса в перицентромерных районах дицентрических хромосом. Была проведена ДНК-FISH к теломерным повторам и показано их отсутствие в районах дистальных к теломерам центромерам в дицентрических хромосомах. Таким образом, мы исключили вариант возникновения неоцентромер путем перцентрической инверсии.

Таким образом, обнаружение сразу нескольких дицентрических хромосом в кариотипе, отсутствие интерстициальных теломерных повторов, инверсионных петель или нарушений синапсиса гомологов позволяет сделать предположение об эпигенетическом механизме возникновения неоцентромер у *D. raddei*.

Обнаружение нами нескольких дицентрических хромосом в одном кариотипе - случай совершенно неординарный и требует дальнейших исследований. Во-первых, ранее было показано, что подвиды *D. raddei*: *D. raddei raddei* – *D. raddei nairensis*, находятся на ранних этапах дивергенции и являются модельной группой в исследованиях процессов видообразования. Во-вторых, *D. raddei* - ключевой материнский вид в формировании сразу нескольких партеногенетических видов и, соответственно, в формировании активно исследуемых в настоящее время гибридных триплоидных и тетраплоидных особей скальных ящериц.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 17-00-00429, №18-54-05020 и ГКН МОН РА №18RF-132.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОМОВ ЛУКОВ: ОЦЕНКА СКОРОСТИ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОВ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПЕРЕСТРОЕК И ОСОБЕННОСТЕЙ, СВИДЕТЕЛЬСТВУЮЩИХ ОБ АДАПТАЦИИ К РАЗЛИЧНЫМ ЭКОЛОГИЧЕСКИМ НИШАМ

Сперанская А.С.<sup>1</sup>, Криницына А.А.<sup>1</sup>, Омельченко Д.О.<sup>2</sup>, Беленикин М.С.<sup>3</sup>, Антипин М.И.<sup>1</sup>, Купцов С.В.<sup>1</sup>, Логачева М.Д.<sup>1,2</sup>, Коноров Е.А.<sup>1,4</sup>, Скобеева В.А.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Россия, Москва, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 12

<sup>2</sup>Сколковский институт науки и технологий, Россия, Москва, Московская обл., д. Сколково, улица Нобеля, 3

<sup>3</sup>Московский физико-технический институт, Россия, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д.9.

<sup>4</sup>Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН, Россия, Москва, ул. Губкина, 3.  
[hanna.s.393@gmail.com](mailto:hanna.s.393@gmail.com)

Род *Allium*, который является одним из крупнейших родов мировой флоры (по некоторым оценкам насчитывает более 900 видов) и представлен тремя эволюционными линиями. Среди его представителей целый ряд экономически важных растений (в т.ч. *A. sativum*, *A. cera*, *A. fistulosum*, *A. schoenoprasum*), съедобные дикорастущие растения (в т.ч. *A. usrinum*), а также довольно большое количество эндемичных видов. Многие виды успешно приспособились к выживанию в неблагоприятных для сельскохозяйственной деятельности условиях, в т.ч. ксерофитных сообществах высокогорий и полупустынь, тогда как другие не выходят из тени широколиственных лесов. Адаптация растений к произрастанию в экологических нишах находит отражение на генетическом уровне. Процессы адаптивной эволюции затрагивают, в том числе, геном хлоропластов, в котором содержатся пулы генов, связанных с основной функцией растения - фотосинтезом. Размер хлоропластного генома намного меньше ядерного, сравним с небольшим бактериальным геномом. Мы получили и охарактеризовали полные последовательности пластомов у представителей всех трех эволюционных линий рода *Allium* (в частности, *A. usrinum*, *A. paradoxum*, *A. victorialis*, *A. macleanii*, *A. nutans*, *A. platyspathum*, *A. obliquum*, *A. schoenoprasum*, *A. pskemense* и др.). Сравнение последовательностей пластомов этих видов, а также других, представленных в GenBank позволило установить следующие факты. (1) При относительно высокой общей консервативности состава и последовательности генов, имеются характерные черты (делеции/инсерции генов, инверсии), которые отличают пластомы *Allium* трех эволюционных линий друг от друга; (2) Последовательность и состав генов в пластоме некоторых видов *Allium* могут неожиданно существенно отличаться. В частности, крупная инверсия, а также утрата и псевдогенизация ряда генов отличает пластом *A. paradoxum* (1я эв. линия), как от *A. usrinum* (другой представитель той же линии), так и от остальных луков; (3) Установлены и охарактеризованы участки пластомы *Allium*, отличающиеся наибольшей скоростью накопления мутаций. В частности, к ним относятся практически все гены и межгенные участки малого однокопийного региона пластомы (SSC); (4) В пластоме некоторых видов найдена дефункционализация (полная или частичная утрата, псевдогенизация) генов, потенциально связанных с адаптацией растений к обитанию в разных экологических нишах, таких как *infA*, *ndh*. Например, у тенелюбивого вида *A. paradoxum* дефункционализации подверглись все гены НАДН-дегидрогеназного комплекса (*ndh*).

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-04-01203

## КАРТИРОВАНИЕ ГЕНОВ ПОСТЗИГОТИЧЕСКОЙ НЕСОВМЕСТИМОСТИ ПШЕНИЦЫ И РЖИ ПО РАЗНЫЕ СТОРОНЫ ТОЧКИ РАЗРЫВА ЭВОЛЮЦИОННОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ В ХРОМОСОМЕ 6R

Цветкова Н.В.<sup>1</sup>, Тихенко Н.Д.<sup>2,3</sup>, Хакауф Б.<sup>4</sup>, Войлоков А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9, <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Москва, 119991, ГСП-1, ул. Губкина, д. 3, <sup>3</sup>Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Germany, Gatersleben, Stadt Seeland OT,D-06466 Corrensstrasse 3, <sup>4</sup>Julius Kühn-Institut, Institute for Breeding Research on Agricultural Crops, Germany, Sanitz, D-18190, Rudolf-Schick-Platz 3a

[n.tswetkova@spbu.ru](mailto:n.tswetkova@spbu.ru)

Постзиготическая репродуктивная изоляция у растений часто основана на негативной комплементации генов, контролирующей развитие растений. Особый интерес представляет изучение взаимодействия такого типа у культурных растений вследствие большого значения межвидовой гибридизации для селекции и внутривидового полиморфизма по генам несовместимости. В работе проведён анализ совместного наследования, и картирование двух генов ржи, контролирующей развитие стеблевой апикальной меристемы у пшенично-ржаных гибридов. Анализ сцепления микросателлитных маркёров хромосомы 6R и генов эмбриональной (*Eml-R1*) и проростковой (*Hdw-R1*) летальностей проводили у гибридов пшеницы Chinese Spring с рекомбинантными инбредными линиями и межлинейными гибридами ржи. При анализе пшенично-ржаных гибридов было установлено сцепление каждого из генов с двумя тесно сцепленными маркёрами *Xgrm959* - *Xgrm902*. Частота рекомбинации между этими генами составила менее 1%. Путём учёта расщепления в трёх дигибридных комбинациях сцепление генов несовместимости было подтверждено непосредственно. Установленная частота рекомбинации между генами несовместимости составила  $6,5 \pm 1,7$  %. На построенных генетических картах маркёры *Xgrm959* - *Xgrm902* локализованы между изучаемыми генами. Ген *Eml-R1* сцеплен с парой косегрегирующих маркёров *Xgwm1103*/*Xgwm732*, локализованных у пшеницы в хромосомах 6A и 6D, а ген *Hdw-R1* сцеплен с локусом *Xgwm751*, локализованным у пшеницы в хромосомах 3A и 3B. Более того контиги ржи с микросателлитными локусами *Xgrm173*, *Xgrm959* с одной стороны и *Xgrm902*, *Xgrm130* с другой стороны значительно схожи с последовательностями ячменя, картированными в хромосомах 6H and 3H соответственно. Таким образом, оба гена ржи локализованы в области хромосомы 6, которая содержит точку разрыва между предковыми хромосомами гомеологичных групп 6 и 3. Точка разрыва у ржи локализована между тесно сцепленными маркёрами *Xgrm959* и *Xgrm902*, а мутации межродовой несовместимости локализованы по разные стороны точки разрыва. Полученные результаты открывают перспективы тонкого картирования генов несовместимости, их позиционного клонирования и установления молекулярной функции. Анализ кодирующих и некодирующих последовательностей, а также транскрипционной активности генов в области множества эволюционных транслокаций, присущих ржи, должны способствовать пониманию эволюции генома ржи и роли транслокаций в качестве механизма межвидовой изоляции.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена в рамках темы «Генетика и селекция ржи на основе наследственного природного разнообразия»

## ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ *PULSATILLA PATENS* S.L. (RANUNCULACEAE) ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ЕВРОПЕЙСКОМ СЕВЕРО-ВОСТОКЕ РОССИИ, НА ОСНОВАНИИ СРАВНЕНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНОВ *MATK* И *RBCL*.

Шадрин Д.М.<sup>1</sup>, Валуйских О.Е.<sup>1</sup>, Тетерюк Л.В.<sup>1</sup>, Пылина Я. И.<sup>1</sup>, Сушенцов О.Е.<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Институт биологии ФИЦ Коми научный центр УрО РАН, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28, 167982; <sup>2</sup>Ботанический сад УрО РАН, Россия, г. Екатеринбург, ул. 8 марта, 202 а, 620002,

[shdimas@ya.ru](mailto:shdimas@ya.ru)

Род *Pulsatilla* Mill. включает около 30 таксонов, распространенных преимущественно в Евразии. Как правило, они являются сложными видовыми комплексами с высокой степенью морфологической изменчивости. Представители рода *Pulsatilla* в местах контакта естественных ареалов часто вступают друг с другом в гибридизацию, что затрудняет их идентификацию. Часть видов обладают небольшими ареалами и находятся под охраной в разных регионах.

До настоящего времени специальных работ по изучению видов рода *Pulsatilla* на европейском северо-востоке России не проводилось. В регионе отмечено более 100 местонахождений представителей рода *Pulsatilla* разных цветовых форм, которые включены в Красную книгу Республики Коми под названием *P. patens* (Мартыненко, 2009). Полиморфизм по окраске цветка, неоднородность популяций по соотношению разных цветовых форм (монохромные и смешанные), географическое расположение региона в зоне контакта ареалов нескольких таксонов требуют ревизии рода *Pulsatilla* на европейском северо-востоке России, в том числе с использованием молекулярно-генетических методов.

Результаты молекулярно-филогенетического анализа видов *Pulsatilla* с использованием маркерных последовательностей генов *rbcl* и *matK* показали неоднородность популяций на северо-востоке Европы. Установлено, что большая часть исследованных образцов на филогенетическом дереве объединена в одну базовую группу, сформированную особями *P. patens* s.str. и *P. uralensis* и их гибридами. Часть образцов формирует отдельную ветвь, представленную исключительно синими цветковыми образцами и, по нашему мнению, сформирована на основе вида *P. patens* (L.) Mill s. str. При условии, что у гибридов часто проявляется генетически детерминированная желтая окраска околоцветника, мы считаем, что большинство изученных популяций прострелов на территории региона демонстрируют процесс «поглощения» сибирским видом *P. uralensis* синими цветковыми популяций *P. patens* и представляют собой сложный комплекс со значительным участием гибридных форм. Проведенный молекулярно-филогенетический анализ не позволил выделить отдельную группу, включающую только виды *P. uralensis*, что вносит неопределенность в объем таксона. Полученные данные могут быть использованы для филогенетических и филогеографических исследований в роде *Pulsatilla*.

Данная работа выполнена при поддержке Комплексной программы фундаментальных исследований УрО РАН, проект № АААА-А17-117121270031-2 (18-4-4-23).

## SHARED SIGNATURES OF SELECTION RELATED TO ADAPTATION AND ACCLIMATION IN GENOMES OF CATTLE AND SHEEP BREEDS FROM RUSSIA

Yudin N.S.<sup>1</sup>, Larkin D.M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, The Siberian Branch, The Russian Academy of Sciences, Russia, Novosibirsk, Prospekt Lavrentyeva 10;* <sup>2</sup>*The Royal Veterinary College, University of London, United Kingdom, London, Royal College Street*  
[yudin@bionet.nsc.ru](mailto:yudin@bionet.nsc.ru)

Different organisms are known to evolve similar adaptational traits when in similar environmental conditions. Therefore, the convergent evolution provides an excellent opportunity to reveal the molecular basis of key adaptive changes. Previously we performed a high-density genotyping and comprehensive scans for signatures of selection in the genomes from 9 cattle and 15 sheep breeds from the Russia adapted to survive in harsh climate [1, 2]. We believe that in the course of natural and artificial selection, these two species of livestock could independently develop similar mechanisms of genetic adaptation to the climatic conditions.

The aim of this study was to identify common candidate genes related to environmental adaptation including the cold climates in Russian native cattle and sheep breeds. We made use of our previously published data on candidate regions under selection in the genomes using the hapFLK and DCMS approaches. We choose one top gene per candidate region under selection for the present study. The total number of genes across all selected regions was 2,143 for the cattle and 7,706 for the sheep breeds ( $p < 0.05$ ). Of these 1,262 genes were shared between the two lists and potentially underwent positive selection in both species. Among them 31 genes were independently reported to be under selection in at least two species of cold-adapted Arctic mammals. Strikingly, the NEB gene, likely associated with heat production via shivering thermogenesis, was found in positively selected regions in the cattle, sheep, mammoth, polar bear, and whale genomes. The shared list of 1,262 genes was enriched for genes that are expressed in the brain, uterus, and blood vessels. The latter group may be associated with adaptation to cold climates due to the known contribution of blood vessels to thermogenesis. Our analysis points to a list of shared genes which could be related to adaptation to cold climates in the Russian cattle and sheep breeds and animals from the Arctic region.

[1]. Yurchenko A.A., Scans for signatures of selection in Russian cattle breed genomes reveal new candidate genes for environmental adaptation and acclimation. // 2018, Sci. Rep., V.8, P.12984.

[2]. Yurchenko A.A., High-density genotyping reveals signatures of selection related to acclimation and economically important traits in 15 local sheep breeds from Russia. // BMC Genomics, in press.

**Acknowledgment:** The research was supported by the Russian Science Foundation grant No. 16–14–00090.



## EARLY METABOLISM THROUGH HYDROGEN ACTIVATION

Preiner M<sup>1</sup>., Yu M<sup>2</sup>., Muchowska K<sup>3</sup>., Tüysüyz H<sup>2</sup>., Moran J. <sup>3</sup>, Martin W. F. <sup>1, 4</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Molecular Evolution, Heinrich-Heine-University, 40225 Düsseldorf, Germany*

<sup>2</sup> *Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, 45470 Mülheim an der Ruhr, Germany*

<sup>3</sup> *Laboratory of Chemical Catalysis, Institut de Science et d'Ingénierie Supramoléculaires, Université de Strasbourg, (ISIS), 67000 Strasbourg, France*

<sup>4</sup> *Instituto de Tecnologia Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa, Portugal*

When it comes to life's origin, there is only one thing we can say for sure: For chemical reactions to take place that could ultimately lead to complex molecules and metabolism, energy release is necessary. The H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> redox couple in hydrothermal vents is especially interesting as a source of early energy: hydrogen is an ancient source of electrons while CO<sub>2</sub> is an ancient source of carbon. Prebiotic CO<sub>2</sub> reduction (carbon fixation) has been and still is an issue for this hypothesis – the midpoint potential of H<sub>2</sub> is not conducive to direct reduction to complex carbon compounds. If we look at biology, the probably most ancient CO<sub>2</sub> fixing metabolic pathway is – simply put – the catalyzed reaction between H<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub>, the product of which is an activated acetyl group. We are investigating the possible transition between geochemical H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> redox reactions to biochemical reactions in the so-called Wood-Ljungdal (acetyl-CoA) pathway and thereby showing the crucial role of H<sub>2</sub> activation with transition metals - possibly via minerals found in serpentinizing hydrothermal systems like awaruite (Ni<sub>3</sub>Fe) or magnetite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>).

[1] Preiner M. et al., Serpentinization: Connecting geochemistry, ancient metabolism and industrial hydrogenation, 2018, *Life*, vol. 8, 41.

## MITOCHONDRIAL GENOME ANALYSIS AND HAPLOGROUP DETERMINATION IN HUMAN SKELETONS

Arıcan E.<sup>1</sup>, Altınışık E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University, Science Faculty, Molecular Biology and Genetics, 34134,  
Vezneciler-Istanbul/TURKEY

<sup>2</sup> Istanbul University, Institute of Graduate Students in Science, 34134,  
Vezneciler-Istanbul/TURKEY

[earican@istanbul.edu.tr](mailto:earican@istanbul.edu.tr)

Molecular anthropology has been dramatically enhanced recently by the development of high-throughput next generation sequencing technologies. Of late, DNA research has yielded significant findings in the bio-cultural evolution of humans. In Turkey, despite the advancements that have been made in the field within the last five years, research is still limited. In this study, aDNA isolations were performed on three human skeletons unearthed from three different sites Karamattepe, Ballicaoluk and Baspınar as part of the Nif Mountain Excavations taking place in Izmir, Turkey. Mitochondrial DNA *d-loop* regions of obtained aDNAs were amplified by “touchdown PCR” using eight primer pairs. Amplified regions were sequenced using the Sanger sequencing method, and the three individuals’ haplogroups were determined using bioinformatic tools.

This study is of particular importance in that it shall pave the way for additional ancient DNA research to be conducted in Turkey in the future. Furthermore, by adding to the body of archeological and historical records, this study shall potentially help to facilitate the development of interdisciplinary studies.

**Acknowledgements:** This work was supported by the Research fund of Istanbul University Project number: 43216 and 31068. Also we thanks to DONE Genetik ve Biyoinformatik A.Ş. for equencing and technical support

## A CYTOLOGICAL BASIS FOR HYBRID MALE STERILITY IN MALARIA MOSQUITOES AT THE EARLY STAGE OF SPECIATION

Sharakhov I.V.<sup>1,2</sup>, Liang J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Entomology, Virginia Tech, 360 West Campus Drive, Blacksburg, VA, 24061, USA;

<sup>2</sup>Department of Cytology and Genetics, Tomsk State University, 36 Lenin Avenue, Tomsk 634050, Russia

[igor@vt.edu](mailto:igor@vt.edu)

The genetic basis and molecular mechanisms of hybrid male sterility are of considerable interest, as they would inform our understanding of both speciation and normal fertility function. Studies of meiosis in male hybrids between various recently evolved species would first identify common cytogenetic errors that arise at early stages of speciation. The *Anopheles gambiae* complex consists of at least eight morphologically nearly indistinguishable sibling species of African malaria mosquitoes. Experimental interspecies crosses in the *An. gambiae* complex often produce sterile F1 hybrid males confirming Haldane's rule of sterility or inviability of the heterogametic sex. To investigate possible cytological causes of hybrid male sterility, we performed crosses between closely related species of the *An. gambiae* complex. We asked three specific questions: (i) Which cellular processes are involved in the spermatogenic breakdown? (ii) Are the defects leading to hybrid male sterility premeiotic, meiotic, or postmeiotic? (iii) What cytogenetic errors trigger infertility in male mosquito hybrids? Testes were severely underdeveloped in male hybrids between male *An. merus* and female *An. gambiae* or *An. coluzzii*. No meiotic chromosomes have been identified in these hybrids. However, gonads had nearly normal morphologies and sizes but produced very few mature spermatozoa in male hybrids from the reciprocal crosses. Using X-specific and Y-specific FISH probes, we followed the process of meiosis in each species and their F1 hybrids between female *An. merus* and male *An. gambiae* or *An. coluzzii*. Unlike pure species, sex chromosomes in meiotic prophase I of F1 hybrids are largely unpaired, and all chromosomes show various degrees of insufficient condensation. Instead of entering the reduction division, primary spermatocytes undergo an equational mitotic division producing diploid two-tailed non-motile sperm cells. Yet, male germ-line-specific genes express normally in these hybrids based on RT-PCR. Thus, our study identified cytogenetic errors that originated in spermatogenesis of interspecies hybrids during an early stage of the post-zygotic isolation.

**Acknowledgements:** This work was supported by the NIH grant R21AI135298 and the NSF grant MCB-1715207.

## ИНТРОГРЕССИИ И ХРОМОСОМНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ НЕ ВЛИЯЮТ НА АКТИВНОСТЬ ГЛИАДИНКОДИРУЮЩИХ ГЕНОВ В ЛИНИЯХ ГИБРИДОВ *TRITICUM AESTIVUM* L. × *AEGILOPS COLUMNARIS* ZHUK.

Новосельская-Драгович А.Ю., Янковская (Шишкина) А.А., Бадаева Е.Д.

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Москва  
[ceroplastes@yandex.ru](mailto:ceroplastes@yandex.ru)

*Ae. columnaris* Zhuk. – потенциальный источник новых генов для улучшения генофонда пшеницы (устойчивость к болезням, засухе и др.). Однако получить линии пшеницы с интрогрессией от *Ae. columnaris* Zhuk долго не удавалось. В НИИСХ Юго-Востока был создан набор линий *T. aestivum* × *Ae. columnaris*, различавшихся по спектрам интрогрессии [1; 2]. В частности, были выявлены замещения/дополнения по хромосомам 1-й и 6-й гомеологических групп, на коротких плечах которых локализованы гены, кодирующие запасные белки глиадины. Множественный аллелизм глиадинкодирующих (ГК) локусов позволяет надежно идентифицировать сорта пшеницы, определять их внутреннюю структуру. Генетика глиадинов сортов пшеницы российской и зарубежной селекции хорошо изучена [3]; для *Ae. columnaris* таких данных нет. Цель работы состояла в уточнении структуры геномов интрогрессивных линий с анализом экспрессии чужеродных генов в геноме пшеницы методом электрофореза (ЭФ) запасных белков. Изучены 17 линий *T. aestivum* × *Ae. columnaris* с замещениями по хромосомам 1-й и 6-й гомеологических групп. Для всех исследованных линий анализ ЭФ спектров глиадинов подтвердил замещение хромосом 6A, 6D или 1D мягкой пшеницы на гомеологические хромосомы *Ae. columnaris*, относящиеся к  $U^c$  или  $X^c$ -геномам. Показана функциональная активность эгилопсных хромосом в пшеничном геноме: исчезали продукты экспрессии ГК генов хромосом 6A, 6D или 1D, при этом появились продукты экспрессии генов, локализованных на чужеродных для пшеницы хромосомах  $U^c$  или  $X^c$ -геномов. Отсутствие экспрессии чужеродных ГК генов у линий с делецией длинного плеча хромосомы  $6X^c$  позволило выдвинуть гипотезу о перемещении ГК локуса из короткого плеча в длинное. Цитогенетический анализ (С-окрашивание) показал существенные различия ортологичных хромосом 6-й группы X-генома по морфологии. Перемещение ГК локуса, вероятно, связано с крупной видоспецифической перицентрической инверсией. В то же время хромосома 1D, независимо от потери части длинного плеча и объединения с негомологичной хромосомой другого генома (4BL), полноценно функционирует. Анализ ЭФ спектров двух видов – *Aegilops* и *Triticum* показал, что не существует отдельных видоспецифичных ЭФ компонентов. «Блочный» характер наследования компонентов глиадинов у эгилопса свидетельствует о сходстве организационной структуры его ГК локусов с пшеничными. Определение генетического контроля разных полипептидов ЭФ спектра эгилопса позволило разработать маркеры для идентификации хромосом  $1X^c$ ,  $6X^c$  и  $6U^c$  *Ae. columnaris*.

[1]. Шишкина А.А., Драгович А.Ю., Рубан А.С., Сибикеев С.Н., Дружин А.Е., Бадаева Е.Д. Разработка генетической классификации хромосом *Aegilops columnaris* Zhuk. на основании анализа интрогрессивных линий *Triticum aestivum* × *Ae. columnaris*. // 2017, Вавиловский журнал генетики и селекции, Т.21, стр.241-249.[2]. Badaeva E.D., Ruban A.S., Shishkina A.A., Sibikeev S.N., Druzhin A.E., Surzhikov S.A., Dragovich A.Y. Genetic classification of *Aegilops columnaris* Zhuk. ( $2n=4x=28$ ,  $U^cU^cX^cX^c$ ) chromosomes based on FISH analysis and substitution patterns in common wheat × *Ae. columnaris* introgressive lines. // 2018, Genome, V 61, P.131-143. [3]. Novoselskaya-Dragovich A.Yu. Genetics and genomics of wheat: storage proteins, ecological plasticity, and immunity. // 2015, Russ. J. Genet., V.51, P.476-490.

**Благодарности:** Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией генетики и цитологии ФГБНУ «НИИСХ Юго- Востока» д. б. н. С.Н. Сибикееву и к. с.-х. н. А.Е. Дружину за предоставленный материал. Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 17-04-00087).

**Симпозиум VIII: Структурная и функциональная протеомика / Symposium VIII: Structural and Functional Proteomics****ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БЕЛКОВЫЕ ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ  
MYCOPLASMA GALLISEPTICUM**

Евсютина Д.В.<sup>1</sup>, Побегуц О.В.<sup>1</sup>, Букато О.Н.<sup>1</sup>, Бутенко И.О.<sup>1</sup>, Фисунов Г.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства», Россия, Москва, ул. Малая Пироговская дом 1а;

*dar-evsyutina@yandex.ru*

Секреция белков бактериями – один из основных процессов, который обеспечивает выведение белков за пределы клетки, где белки либо остаются связанными с мембраной (интегральные белки, ассоциированные с поверхностью), либо полностью переходят в окружающую среду. Функции этих белков могут быть различны. У патогенных бактерий факторы вирулентности, которые нарушают целостность и функции клеток-хозяина, как правило, секретируются. В нашей работе мы идентифицировали и проанализировали фракции внеклеточных секретируемых, мембранных и ассоциированных с мембраной белков патогена птиц *Mycoplasma gallisepticum* с целью поиска новых потенциальных белковых факторов патогенности. Нами были разработаны методики выделения секретируемых и мембранных белков и проведена их идентификация методами ВЭЖХ-МС. Для нивелирования искажения результатов за счет примесей цитоплазматических белков мы сравнили представленность белков в полученных фракциях с их представленностью в цитоплазме микоплазмы. Для предсказания локализации белков были использованы различные биоинформатические программы, а для подтверждения локализации отдельных белков мы применили систему на основе флуоресцентного анализа. По сходству первичной структуры внеклеточные секретируемые белки были разделены на четыре группы: связывающие иммуноглобулин, протеазы и две группы белков с неизвестной функцией. Среди поверхностных белков были выделены три группы: гемагглютинины семейства VlhA, протеазы и белки с неизвестной функцией. В мембранную фракцию вошло 174 белка, выполняющих различные функции. Функции неохарактеризованных белков еще предстоит выяснить. В результате нами были представлены наиболее полные данные о белковом составе мембраны и фракции секретируемых белков микоплазмы, что важно для прояснения механизмов ухода микоплазмы от действия иммунной системы, а также идентификации потенциальных факторов, влияющих на патогенность микоплазмы.

## RopA AND RopB: NOVEL AMYLOID-FORMING PROTEINS OF THE ROOT-NODULE BACTERIUM RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM

Kosolapova A.O.<sup>1,2</sup>, Belousov M.V.<sup>1,2</sup>, Belousova M.E.<sup>1</sup>, Antonets K.S.<sup>1,2</sup>, Shtark O.Y.<sup>1</sup>, Nizhnikov A.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Pushkin, Russia;

<sup>2</sup>St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

[kosolapova97@mail.ru](mailto:kosolapova97@mail.ru)

Amyloids are highly-ordered unbranched protein fibrils characterized by cross-beta spatial structure. Despite amyloid formation is linked to development of more than 30 incurable diseases of human and animals such as Alzheimer's disease and type-2 diabetes, the investigations of the last decades prove that amyloids can perform various physiological functions in both prokaryotes and eukaryotes. The majority of prokaryotic functional amyloids are identified within *Gammaproteobacteria* species including *Escherichia coli*. In the contrary, there are no known functional amyloids within *Alphaproteobacteria*. Using Proteomic Screening and Identification of Amyloids (PSIA) approach [1], we identified 54 proteins in detergent-resistant protein fraction of *Rhizobium leguminosarum* species of *Alphaproteobacteria*, which is an agriculturally important symbiont of legumes. For further analysis we chose two  $\beta$ -barrel proteins involved in nodulation - RopA porin, which was identified with the highest mass-spectroscopy score, and outer membrane protein RopB. With the usage of Curli-Dependent Amyloid Generator (C-DAG) system [2] we demonstrated that *E. coli* cells exporting RopA and RopB proteins exhibit apple-green birefringence upon Congo Red dye binding representing one of the key characteristics of amyloids. Moreover, RopA and RopB proteins form unbranched fibrils on the cell surface of *E. coli*. Also, we showed aggregation of RopA and RopB proteins fused with YFP in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells. Taking together, we may conclude that RopA and RopB are able to form amyloid fibrils.

[1]. Nizhnikov A.A. et al. Interaction of Prions Causes Heritable Traits in *Saccharomyces cerevisiae* // PLoS Genet. 2016. T. 12. № 12

[2]. Sivanathan V., Hochschild A. A bacterial export system for generating extracellular amyloid aggregates // Nat. Protoc. 2013. T. 8. № 7. C. 1381–1390.

**Acknowledgements:** This work is supported by the Russian Science Foundation, grant No 17-16-01100. The authors acknowledge Research Park of SPbSU for the opportunity to use equipment of “RRCMCT” and “Chromas”.

## ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВОГО ПРОФИЛЯ ПЛЕРОЦЕРКОИДОВ *SCHISTOCERPHALUS SOLIDUS* ПОСЛЕ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ИНКУБАЦИИ ПРИ 40° С

Кочнева А.А.<sup>1</sup>, Борвинская Е.В.<sup>1,2</sup>, Бедулина Д.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук", Россия, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, д.11;

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт биологии Иркутского государственного университета, Россия, г. Иркутск, ул. Ленина, д. 3

[kochnevaalbina@gmail.com](mailto:kochnevaalbina@gmail.com)

Представители класса Ленточные черви (Cestoda) являются уникальными организмами, обитающими исключительно во внутренних органах позвоночных и беспозвоночных животных, при этом переселяющимися из одних видов хозяев в другие в ходе прохождения онтогенеза. Во время смены хозяина параметры окружающей среды паразита, такие как состав микроэлементов, питательных веществ, гормонов, температура, насыщение кислородом изменяются в широком диапазоне, что влечет за собой соответствующие адаптивные перестройки метаболизма червей. Объектом данного исследования были цестоды отряда Лентецы (Pseudophyllidean) - *Schistocephalus solidus* (Müller, 1776). Промежуточными хозяевами паразита являются пойкилотермные животные (первый промежуточный - планктонные рачки, второй - трехглая колюшка *Gasterosteus aculeatus* L.), а окончательными хозяевами - гомойтермные животные (чаще рыбоядные птицы). Таким образом, при попадании гельминта в кишечный тракт окончательного хозяина черви подвергаются влиянию быстрого перепада температур вплоть до 40° С. Также попадание в тело окончательного хозяина стимулирует стремительное половое созревание *S. Solidus* (48-72 часа), которое сопровождается морфофизиологическими изменениями тела гельминта.

В данном исследовании мы впервые изучили изменения спектра белков *S. Solidus*, происходящих во время быстрого нагревания. Для этого колюшку с червями в полости тела перемещали из воды с температурой 20-22° С в воду с температурой 40° С и инкубировали в течение часа. Белковые экстракты извлеченных паразитов анализировали на масс-спектрометре типа OrbiTrap Q-Exactive HF-X сопряженном с нанопотоковой системой ВЭЖХ UltiMate 3000 RSLC Nano (Thermo Scientific). В результате были обнаружены качественные и количественные различия в профилях белков гельминтов контрольной и опытной групп. Ряд спектров белков, таких как ДНК-связывающий белок HEXBP, структурный белок тропомодулин, транспортный Vam6/Vps39-подобный белок, неохарактеризованный белок семейства малых белков теплового шока HSP20 и другие были обнаружены лишь в образцах, которые были подвержены нагреванию. Контрольные пробы отличались присутствием спектров фермента транскрипции, трансляции и репарации ДНК поли(АДФ-рибоза)-полимеразы, и нескольких неохарактеризованных полипептидов. Таким образом, в результате нашего исследования были выявлены индуцибельные белки, отвечающие за адаптационные перестройки метаболизма паразита при нагревании, а также участвующие в инициации полового созревания гельминта.

**Благодарности:** Финансовое обеспечение исследования осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (№ 0218-2019-0076) и при поддержке гранта РФФИ (проект № 17-04-01700) с использованием научного оборудования ЦКП КарНЦ РАН.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОТЕОМА И ТРАНСКРИПТОМА ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ПРИ ПЕРЕХОДЕ К АНАЭРОБНЫМ УСЛОВИЯМ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Мещерякова И. А.\*, Банникова С. В., Розанов А. С., Ощепков Д. Ю., Васильев Г. В., Демидов Е. А., Слынько Н.М., Старостин К. В., Пельтек С. Е.

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики

Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск,

пр. ак. Лаврентьева, 10

*miren@ngs.ru*

Проведено исследование изменений генной и белковой экспрессии на ранних этапах адаптации культуры дрожжей к бескислородным условиям культивирования. Для этого выделяли мРНК и белок из проб, взятых из биореактора до и через 5, 10, 20, 40 и 80 минут после замены подачи воздуха на азот. Регистрацию изменений генной активности проводили путем сравнения данных РНК секвенирования во всех временных точках с данными начальной точки. Выявление дифференциально экспрессированных белков проводили методом двумерного электрофореза с последующей идентификацией белковых фракций по их пептидной карте масс методом MALDI масс-спектрометрии. Биоинформационную обработку результатов проводили с использованием доступных он-лайн ресурсов STRING и PANTHER.

Анализ результатов показал, что число дифференциально экспрессированных транскриптов на 5 и 10 минутах после отключения подачи воздуха относительно невелико. Однако более половины из них являются регуляторами процессов адаптации к анаэробнобиозу, изменение экспрессии эффекторных генов которых зарегистрировано с 20 минуты. На транскриптомном уровне адаптация включала снижение экспрессии генов пути окислительного фосфорилирования, что регулируется репрессором генов гипоксии *ROX1*, активацию пути гликолиза/глюконеогенеза, регулируемую индуктором гликолитических генов *TYE7*, активацию процесса захвата спирта и процесса биосинтеза стеролов, регулируемую фактором транскрипции *Sut1*. На протеомном уровне ответ на гипоксию начинался раньше транскриптомного, уже с 10 минуты происходило повышение экспрессии белков, задействованных в процессах метаболизма углерода, спирта и биосинтеза аминокислот.

При переходе от аэробного к анаэробному режиму культивирования сначала происходит изменение экспрессии генов-регуляторов метаболических процессов, которые активируются затем на протеомном и транскриптомном уровнях не одновременно и необязательно воспроизводя друг друга. Переход к анаэробнобиозу начинается с изменения экспрессии белков-участников процессов метаболизма углерода, спирта и биосинтеза аминокислот, а затем генов-участников процессов клеточного дыхания, гликолиза, метаболизма спирта и биосинтеза стеролов.

## ТРАНСКРИПТ *OPISTHORCHIS FELINEUS*, КОДИРУЮЩИЙ БЕЛОК С АВТОНОМНЫМ ДОМЕНОМ SAPOSIN B

Пирожкова Д.С., Катохин А.В.

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева 10  
[pirozhkova@bionet.nsc.ru](mailto:pirozhkova@bionet.nsc.ru)

Белки с автономным доменом saposin B найдены у одноклеточных и многоклеточных эукариот, в том числе у трематод. Такие белки известны как липид-связывающие и пороформирующие. Физиологическое значение saposin B-содержащих белков *Entamoeba histolytica* связывают с повреждением клеток хозяина и вирулентностью. Другие хорошо изученные белки этой группы – это белки лейкоцитов НК-лизин и гранулизин – нарушают целостность мембран бактерий и опухолевых клеток. Saposin B-содержащие белки были обнаружены у многих трематод, и могут участвовать во взаимодействии «паразит-хозяин», благодаря иммуногенности, присутствию в экскреторно-секреторном продукте, а также потенциальной способности повреждать клеточные мембраны.

Белок clonopropin 1 (AAN51976.1) китайской двуустки *Clonorchis sinensis*, оказывает мембранолитическое действие, вызывая гемолиз *in vitro*. Последовательность, кодирующая ортолог clonopropin 1, обнаружена в базе NCBI EST *O. viverrini* (EL619074.1), и вероятнее всего, такой же ортолог есть и у *O. felineus*, поскольку эти три вида состоят в ближайшем эволюционном родстве. К настоящему моменту собран и проаннотирован транскриптом *O. felineus*, но последовательность, кодирующая ортолог clonopropin 1, не была обнаружена ни в транскриптом, ни в базе EST.

Здесь мы пытаемся найти и охарактеризовать транскрипт *O. felineus*, кодирующий ортолог clonopropin 1.

Мы спроектировали и синтезировали специфические праймеры для амплификации кодирующей части и фрагментов UTR предполагаемого транскрипта, кодирующего clonopropin 1-like protein у *O. felineus* (OF-c1-1p). Полученный ампликон секвенировали методом Сэнгера (GenBank MK360860). Границы экзонов были определены с использованием соответствующего фрагмента генома *C. sinensis*, и было найдено 6 экзонов, 3 из которых составляют домен saposin B. Два экзона являются микроэкзонами, что указывает на возможность альтернативного сплайсинга. N-конец белка OF-c1-1p представлен сигнальным пептидом.

Для определения стадиоспецифичности экспрессия целевого гена была оценена с помощью SYBR Green Real-time PCR у метацеркарий, взрослых паразитов и ювенильных марит. Было обнаружено, что экспрессия целевого гена у взрослых паразитов приблизительно в 2000 выше, чем у метацеркарий и в 640 раз выше, чем у ювенильных марит.

Эволюционное родство печеночных сосальщиков рода *Opisthorchis* позволило нам предположить существование транскрипта, кодирующего clonopropin 1-like protein у *O. felineus*, который был обнаружен, секвенирован и охарактеризован.

## ВЫЯВЛЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ АМИЛОИДОВ В ООЦИТАХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* И *GALLUS GALLUS DOMESTICUS*

Синюкова В.А.<sup>1</sup>, Рыжкова К.В.<sup>2</sup>, Сопова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Белашова Т.А.<sup>1</sup>, Галкина С.А.<sup>2</sup>,  
Галкин А.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Санкт-Петербургский филиал института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Санкт-Петербург, Петергоф, Ботаническая 17; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная 7–9

[veleenna@yandex.ru](mailto:veleenna@yandex.ru)

Амилоиды представляют собой фибриллярные белковые агрегаты, образующие кросс- $\beta$ -структуру. Традиционно в литературе рассматриваются патологические амилоиды, ассоциированные с десятками неизлечимых заболеваний человека, однако со временем был выявлен ряд амилоидов, в норме присутствующих в клетках различных организмов и выполняющих жизненно важные функции. На данный момент есть все предпосылки считать, что и в ооцитах различных организмов присутствуют функциональные амилоиды, однако системный поиск таких белков никогда не проводился. Мы показали, что в яичниках *Drosophila melanogaster* и *Gallus gallus domesticus* присутствуют структуры, связывающие амилоид-специфичный краситель тиофлавин S. В яичниках курицы амилоид-специфичный краситель связывает гранулы фолликулярных клеток, а также некие структуры в цитоплазме и ядре ранних ооцитов. На поздних стадиях развития ооцита амилоидный краситель не выявляется. В яичниках дрозофилы в фолликулярных клетках и в питающих клетках ооцитов выявляются тиофлавин-позитивные сигналы, ассоциированные с хроматином. Также тиофлавин S специфически связывается с так называемыми «pillars» – структурными элементами оболочки яйца. Используя разработанный нами метод протеомного скрининга амилоидов, мы выявили белки, формирующие детергент-устойчивые амилоидоподобные агрегаты в ооцитах курицы и дрозофилы. В ооцитах курицы во фракции белков, формирующих детергент-устойчивых амилоидоподобные агрегаты, выявляется вителлогенин – предшественник основных белков желтка, расщепляющийся при созревании ооцитов на несколько белков. Из литературных данных известно, что вителлогенин синтезируется в печени, транспортируется в виде везикул в фолликулярные клетки и далее в ооциты, где расщепляется на отдельные белки. Его локализация совпадает с выявленными нами сигналами тиофлавина. Протеомный скрининг в ооцитах дрозофилы выявил белки CP36 и Nup50. CP36 – мажорный белковый компонент оболочки яйца. Nup50 – нуклеопорин, ассоциированный с активно транскрибирующимся хроматином. С учётом данных цитологического анализа эти белки являются наиболее перспективными кандидатами на роль функциональных амилоидов в ооцитах дрозофилы. Для всех белков был проведен биоинформатический анализ, показавший наличие потенциально амилоидогенных регионов. В настоящее время ведется дальнейшая работа по оценке амилоидных свойств этих белков, но уже сейчас можно сказать, что в ооцитах различных организмов в норме присутствуют амилоидоподобные структуры.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДОМЕНА С НЕИЗВЕСТНЫМИ ФУНКЦИЯМИ ТЕЛОМЕР-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА TRF2 С ЯДЕРНОЙ ЛАМИНОЙ

Травина А.О.<sup>1</sup>, Ильичева Н.В.<sup>1</sup>, Воронин А.П.<sup>1,2</sup>, Подгорная О.И.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт Цитологии РАН, Россия, г. Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., 4; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9; <sup>3</sup>Дальневосточный Федеральный университет, Россия, г. Владивосток, ул. Суханова, 8.

[alotra1@yandex.ru](mailto:alotra1@yandex.ru)

Изучение механизмов взаимодействия теломер с ядерной мембраной необходимо для понимания процессов клеточного старения. Мутации в гене *LMNA*, кодирующем ламин А, вызывают множество генетических заболеваний, в том числе прогерия Хатчинсона-Гилфорда (HGPS). В клетках больных HGPS наблюдаются укорачивание теломер, нарушения структуры ядерной мембраны и сниженная пролиферативная активность. В состав теломер-связывающего белка TRF2 входит домен udTRF2, которого нет в составе гомологичного белка TRF1, а функции этого домена неясны. Гомология между udTRF2-доменом и rod-доменами белков ламин может указывать на то, что домен ответственен за взаимодействие теломер с ядерной мембраной. Показано, что ламин А/С взаимодействует TRF2, но не с TRF1 [1]. Специфичность взаимодействия также может указывать на ключевую роль домена во взаимодействии теломер с ламинами.

Соответствующий udTRF2-домену полипептид получен с помощью экспрессии в штамме *E. coli* RosettaBlue (DE3)-pET32a-udTRF2 и выделен из клеточного лизата осаждением сульфатом аммония и ионообменной хроматографией. Поликлональные антитела к udTRF2 получены иммунизацией морских свинок. Экстракт ядерной ламин выделен из клеток печени и селезенки мышей. Антитела к полипептиду инкубировали с протеин-А-сефарозой 3 часа при 4°C. Экстракт ядерной ламин инкубировали с udTRF2 7 часов при 4°C, а затем добавляли к протеин-А-сефарозе с антителами и инкубировали 12 часов (проба 1). Для контроля протеин-А-сефарозу инкубировали с раствором udTRF2 (проба 2), а протеин-А-сефарозу со связавшимися антителами – с раствором udTRF2 (проба 3) и с экстрактом ядерной ламин (проба 4). Вестерн-блот с коммерческими антителами к TRF2, ламину С и ламину В1 показал, что ламин В1 и С частично связываются с udTRF2. Взаимодействие TRF2 через udTRF2-домен с ламин В1 было показано впервые.

Таким образом, методом ко-иммунопреципитации рекомбинантного полипептида udTRF2 с экстрактом ядерной ламин показано, что домен udTRF2 связывается с белками ядерной ламин *in vitro*. В дальнейшем мы планируем исследовать функциональное значение этого взаимодействия *in vivo*. Для этого с помощью сайт-специфического мутагенеза получен ген TRF2ΔL, кодирующий белок TRF2 с делецией udTRF2.

[1] Wood A.M. TRF2 and lamin A/C interact to facilitate the functional organization of chromosome ends. // 2014, Nature commun., V.5, P.1-14

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и гранта РФФИ 19-34-80032.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ В СЕКРЕТОМЕ МХА *PHYSCOMITRELLA PATENS*

Филиппова А.А.<sup>1</sup>, Фесенко И.А.<sup>1</sup>, Ляпина И.С.<sup>1</sup>, Хазигалеева Р.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН,  
Россия, Москва, улица Миклухо-Маклая, дом 16/10

[annaphilippova25@gmail.com](mailto:annaphilippova25@gmail.com)

Биологически активные пептиды растений представляют собой класс низкомолекулярных соединений, которые играют важную роль во множестве биологических процессов от роста и развития до ответа на биотический и абиотический стрессы [1]. Большинство известных биоактивных пептидов генерируется в результате протеолиза специализированных белков-предшественников [2]. Однако недавние исследования также показывают, что растительные протеазы могут вырезать эндогенные пептиды из функциональных белков-прекурсоров [3]. Количество и функции таких пептидов, а также принципы их генерации в условиях стресса до сих пор мало исследованы.

С целью изучить изменения в пептидном пуле растений в условиях стресса мы использовали модельное растение - мох *Physcomitrella patens*. Мы обнаружили, что часовая обработка различными концентрациями стрессового фитогормона, метилжасмоната (MeJA), приводит к увеличению антимикробной активности внеклеточного пептидома мха. Добавление коктейля ингибиторов протеаз привело к снижению антимикробной активности, что указывает на возможное образование эндогенных антимикробных пептидов с помощью действия протеаз. Последующая серия экспериментов с добавлением ингибиторов разных классов протеаз позволила обнаружить наиболее вероятные типы протеаз, генерирующих антимикробные пептиды. Затем с помощью масс-спектрометрического анализа были исследованы пулы эндогенных пептидов секретома, образованных из функциональных и специализированных (инактивных) белков-прекурсоров в результате часовой обработки 400 мкМ MeJA. Данный подход позволил идентифицировать 432 уникальных эндогенных пептида в результате обработки MeJA. С помощью *in silico* и *in vivo* анализа мы обнаружили антимикробную активность у нескольких пептидов, образованных из функциональных белков при обработке MeJA. Полученные результаты указывают, что стрессовые гормоны усиливают деградацию белков и приводят к формированию пула потенциально биоактивных пептидов.

[1]. Tavormina P., De Coninck B., Nikonorova N., De Smet I., Cammue B.P.A., The Plant Peptidome: An Expanding Repertoire of Structural Features and Biological Functions. // 2015, The Plant Cell, V.27, P. 2095–2118.

[2]. Matsubayashi Y., Posttranslationally Modified Small-Peptide Signals in Plants. // 2014, Annu. Rev. Plant Biol., V.65, P. 385–413.

[3]. Stührwohldt N., Schaller A., Regulation of plant peptide hormones and growth factors by post-translational modification. // 2018, Plant Biology, V. 21(Suppl.1), P. 49–63.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ № 17-14-01189.

## БЕЛОК МВР, СТАБИЛИЗИРУЮЩИЙ МИЕЛИНОВЫЕ ОБОЛОЧКИ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН, ФУНКЦИОНИРУЕТ В МОЗГЕ В АМИЛОИДНОЙ КОНФОРМАЦИИ

Шенфельд А.А.<sup>1,2</sup>, Сопова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Белашова Т.А.<sup>2</sup>, Галкин А.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7–9;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Санкт-Петербург, Ботаническая ул. 17.

[shenaleksandr@mail.ru](mailto:shenaleksandr@mail.ru)

Амилоиды представляют собой упорядоченные высокомолекулярные белковые полимеры, обогащенные бета-слоями. Накопление амилоидных фибрилл в различных тканях, как правило, ассоциировано с патологическим процессом, именуемым амилоидозом. Однако, помимо патологических, существуют и функциональные амилоиды, которые регулируют жизненно-важные процессы. К ним, к примеру, можно отнести экстраклеточные бактериальные белки, формирующие биоплёнку, а также человеческий белок Pmel17, задействованный в связывании молекул меланина. Мы применили ранее разработанный в нашей лаборатории протеомный метод [1] для выявления белков, формирующих детергент-устойчивые амилоидоподобные агрегаты в мозге крысы *R. norvegicus*. Данный подход основан на универсальном свойстве всех амилоидов – устойчивости к ионным детергентам, таким как SDS. В результате протеомного скрининга в мозге молодых самцов крысы был выявлен ряд белков, формирующих детергент-устойчивые агрегаты. Один из выявленных кандидатов на роль функциональных амилоидов – белок МВР (Myelin Basic Protein), который представляет собой основной компонент миелиновой оболочки нервных волокон. Ранее уже была показана способность белка МВР формировать фибриллы *in vitro* [2]. Наша работа была нацелена на анализ амилоидных свойств белка МВР *in vivo*. С помощью методов полуденатурирующего электрофореза и фракционирования белкового лизата мы показали, что белок МВР представлен в мозге крысы в виде олигомеров и нерастворимых детергент-устойчивых агрегатов. Также мы обнаружили связывание амилоид-специфичного красителя тиофлавин-S с МВР содержащими миелиновыми волокнами стриатума головного мозга крысы. С помощью биоинформатического алгоритма Amylpred-2 [3] был предсказан потенциально амилоидогенный регион белка МВР, включающий последовательность с 60-й по 155 аминокислоту. Для оценки способности фрагмента белка МВР(60-155ак.) образовывать агрегаты *in vivo* была использована дрожжевая гетерологичная система. При продукции в клетках *S. cerevisiae* штамма GT409 химерный белок МВР(60-155)-GFP представлен в виде агрегатов, тогда как белок МВР(1-59)-GFP, не содержащий потенциального амилоидогенного региона, не образует в клетках видимых агрегатов. Полученные результаты говорят о том, что белок МВР демонстрирует амилоидные свойства *in vivo*.

[1] Nizhnikov AA et al., Interaction of Prions Causes Heritable Traits in *Saccharomyces cerevisiae*. // 2016, PLoS Genet. 12(12):e1006504.

[2] Aggarwal S et al., Myelin membrane assembly is driven by a phase transition of myelin basic proteins into a cohesive protein meshwork. //2013, PLoS Biol. 11(6):e1001577.

[3] Tsolis AC et al., A consensus method for the prediction of 'aggregation-prone' peptides in globular proteins.// 2013, PLoS One. 8(1):e54175.

## THE EFFECTS OF EXOGENIC ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS (AGEs) ON CULTURED RHIZOBIA

Shumilina J.,<sup>1</sup> Dinastia E.,<sup>1,2,3</sup> Tsarev, A.<sup>1,2</sup> Kuznetsova A.,<sup>1</sup> Akhtemova G.,<sup>4</sup> Grishina T.,<sup>1</sup> Zhukov V.,<sup>4</sup> I. Tikhonovich,<sup>4,5</sup> Westermann B.,<sup>2</sup> Frolov A..<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg State University, Department of Biochemistry, St. Petersburg, Russia, <sup>2</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Department of Bioorganic Chemistry, Halle (Saale), Saxony-Anhalt, Germany, <sup>3</sup>Postovsky Institute of Organic Synthesis of Ural Division of Russian Academy of Sciences, <sup>4</sup>All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Department of Biotechnology, St. Petersburg, Russia, <sup>5</sup>St. Petersburg State University, Department of Genetics and Biotechnology, St. Petersburg, Russia,

[schumilina.u@yandex.ru](mailto:schumilina.u@yandex.ru)

Legumes represent an important source of food protein for human nutrition and animal feeding. Therefore, sustainable production of legume crops is an issue of a global importance. For this, high efficiency of legume-rhizobial symbiosis is a pre-requisite. The efficiency of this mutual association, in turn, strongly depends on precise regulation of interactions between the plant and rhizobial partners. Although the underlying mechanisms are well-characterized, the knowledge on the architecture of regulatory pathways and probable effectors is still incomplete. Indeed, in our recent analysis of the common bean noodle proteome, multiple age-related glycation hot spots were identified [1]. Thus, it can be possible, that advanced glycation end products (AGEs) are involved in regulation of age-related changes in nodules. Therefore, here we address the effects of synthetic AGEs (free amino acids and AGE-containing peptides), supplemented to cultured rhizobia (*Rhizobium leguminosarum*). The primary growth inhibition assays were performed with methylglyoxal-derived hydroimidazolone 1 (*N*<sup>δ</sup>-(5-methyl-4-oxo-5-hydroimidazolinone-2-yl)-*L*-ornithine, MG-H1), which was reported to be pro-inflammatory in mammalian test-systems. However, both amino acid and peptide were non-toxic in rhizobial culture in the range of concentrations 1 – 500 μmol/L. On another hand, application of 25 μmol/L MG-H1 increased the growth rate of the bacterial culture during the first five hours. To address this effect in more detail, total protein fraction was isolated from the cells, harvested before and after 5 or 18 h after supplementation of AGEs. The proteins were digested and analyzed by nanoLC-ESI-LIT-Orbitrap-MS in a data-dependent acquisition (DDA) mode. Database search was based on the SEQUEST algorithm, whereas quantitative differences were characterized by the label-free strategy.

[1] Matamoros M.A., Kim A., Peñuelas M., Ihling C., Griesser E., Hoffmann R., Fedorova M., Frolov A., Becana M., Protein carbonylation and glycation in legume nodules.// 2018, Plant Phys. V.177(4), PP. 1510-1528.

The research was supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR, project 18-016-00190).

## ВЛИЯНИЕ СМЕЖНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ НА АГРЕГАЦИЮ АМИЛОИДОГЕННЫХ ДОМЕНОВ БЕЛКОВ

Гризель А.В.<sup>1</sup>, Гризель А.В.<sup>1</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург 199034,

<sup>2</sup>Georgia Institute of Technology, USA, Atlanta, GA 30332-2000;

*avgrizel@gmail.com*

Амилоиды (фибрилярные агрегаты белков с кросс-бета структурой) и их инфекционная форма (прионы) связаны со многими заболеваниями млекопитающих, а также контролируют некоторые наследственные признаки у дрожжей. Амилоиды широко распространены среди организмов и могут играть положительную роль, например в полимеризации меланина, и процессах памяти. Около 1% протеома человека состоит из белков с доменами, которые сходны по аминокислотному составу с прионными доменами дрожжей. Однако до сих пор неясно, каким образом регулируется способность этих белков образовывать (или не образовывать) амилоиды. Для некоторых амилоидных белков показано, что последовательности, соседствующие с амилоидогенными доменами, могут препятствовать амилоидной агрегации и способствовать образованию других типов биоконденсатов, таких как «жидкие капли» и гидрогели. Несмотря на важную роль смежных последовательностей в регуляции конформации амилоидогенных участков, механизм такой регуляции слабо изучен. Цель нашей работы – исследование механизма влияния смежных последовательностей на конформацию амилоидогенных участков. Для этого, мы изучали агрегацию человеческого амилоида бета, Abeta42 (пептида, связанного с болезнью Альцгеймера), дрожжевого прионного белка Sup35 и химерных конструкций, полученных с участием этих белков. Слияние Abeta с прионным доменом белка Sup35 способствует амилоидной агрегации Sup35 в условиях, в которых сам Sup35 не агрегирует. Добавление структурированного флуоресцентного белка к С-концу Abeta42 в таком химерном белке ингибирует образование амилоидных агрегатов, но способствует образованию неамилоидных биоконденсатов. Мы предполагаем, что соседство с крупными структурированными доменами нарушает способность Abeta42 к агрегации в виду стерических затруднений при присоединении следующих мономеров белка, и способствует образованию альтернативных комплексов (неамилоидных биоконденсатов). В наших исследованиях также рассматривается роль различных участков белка Sup35 в регуляции образования амилоидов и неамилоидных биоконденсатов, и взаимоотношение этих биоконденсатов с защитными РНК-белковыми комплексами (стрессовыми гранулами).

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта 18-74-00041 (РНФ) и проекта 15.61.2218.2013 (СПбГУ), и при помощи Ресурсных центров «Биобанк», «Хромас» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

## АНАЛИЗ И МОДЕЛИРОВАНИЕ БЕЛКОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГАМЕТ КУКУРУЗЫ

Гусев Ю.С., Мазилев С.И., Моисеева Е.М., Волохина И.В., Чумаков М.И.

*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук,  
410049 Саратов, пр-т Энтузиастов, д. 13*

*gusev\_yu@ibppm.ru*

Для создания гаплоидных линий сельскохозяйственных растений с помощью традиционной селекции уходит много времени, около десятка поколений растений. Одним из решений более быстрого получения гаплоидов у кукурузы является использование в качестве опылителей, так называемых линий-гаплоиндукторов. Для разработки технологии гаплоиндукции и получения таких линий необходимо знание молекулярно-генетического механизма взаимодействия гамет, нарушение которого приводит к возникновению гаплоидов в гиногенезе. В 2017 г. окончательно установлено, что белок HAP2/GCS1 обеспечивает слияние мембран спермия с яйцеклеткой как у растений, так и у животных [1]. У арабидопсиса помимо белка HAP2/GCS1 на этапе взаимодействия (адгезии) мембран спермия и яйцеклетки необходим еще белок GEX2 (GAMETE EXPRESSED 2) [2]. Следует подчеркнуть, что если для арабидопсиса имеется достаточно подробная информация о генах, контролирующих процесс взаимодействия и слияния гамет, то для важной в агрономическом плане кукурузы этот процесс не изучался. Первые данные о генах, контролирующих взаимодействие и слияния мембран гамет кукурузы (*Zm\_gsc1*, *Zm\_gex2*), опубликованы нами в 2017 году [3]. Установлено, что последовательность гена *Zm\_gsc1* имеет консервативную область, кодирующую домен – мужской фактор слияния гамет [3]. Последовательность гена *Zm\_gex2* имеет консервативную область, кодирующую домен – филамин [3]. В связи с важностью белков HAP2/GCS1 и GEX2 для слияния мембран гамет у кукурузы в данной работе изучалась их молекулярная структура и функции. С помощью биоинформационных методов для моделирования трёхмерной структуры белков (программы PHYRE 2.0, I-TASSER) предсказаны структуры белков, кодируемых генами *Zm\_gsc1* и *Zm\_gex2* кукурузы. В частности установлено, что N-концевой участок белка ZM\_HAP2 состоит из 11 бета- и 2-х альфа-спиральных структур, тогда как C-концевой участок белка ZM\_HAP2 представлен преимущественно петлевыми структурами, а также тремя альфа-спиралями и одной бета-складкой. С помощью методов нормальных мод и молекулярной динамики изучены динамические свойства белков HAP2/GCS1 и GEX2. Подобраны специфические гид-РНК к N- и C-концевым участкам белков HAP2/GCS1 и GEX2, проведен анализ возможных конформационных изменений и нарушений в белках, сопровождающих CRISPR/Cas9 встройки в различных участках белков.

Литература:

[1] Valansi C., Moi D., Leikina E., Matveev E., Graña M., Chernomordik L.V., Romero H., Aguilar P.S., Podbilewicz B. *Arabidopsis* HAP2/GCS1 is a gamete fusion protein homologous to somatic and viral fusogens. // 2017, J. Cell Biol., V.216, P.571-581.

[2] Mori T., Igawa T., Tamiya G., Miyagishima S., Berger F. Gamete attachment requires GEX2 for successful fertilization in *Arabidopsis*. // 2014, Curr. Biol., V.24, P.170-175.

[3] Волохина И.В., Моисеева Е.М., Гусев Ю.С., Гуторова О.В., Чумаков М.И. Анализ генов слияния гамет у гапло-индуцирующей линии кукурузы. // 2017, Онтогенез, №2, С.134-139.

**Благодарности:** Работа выполнена с частичной поддержкой Программы ФНИ госакадемий наук на 2013-2020 гг. (№гос.регистрации АААА-А17-117102740101-5) и грантов РФФИ №№18-016-00155, 18-29-14048.

## MOLECULAR MAPPING OF POSTGENOMIC DATA: FROM METABOLITES TO GENES

Kaysheva A. L., Stepanov A. A., Kopylov A. T., Lisitsa A. V.

*Research Institute of biomedical chemistry named after V. N. Orehovica*

A comparative mass spectrometric analysis of the protein composition of blood plasma samples of patients with colorectal cancer was performed. High-resolution panoramic mass spectrometry was chosen as the main research method. As a result of the analysis of the protein composition of 80 depleted blood plasma samples, it was found that the samples are similar in number of identified proteins, in composition and relative protein content. As a result of compared with control samples, we revealed a group of proteins identified only in blood plasma samples of patients with colorectal cancer.

As a result of the analysis of the literature data, metabolites associated with the development of colorectal cancer were annotated, and a comparative analysis of the expression data for samples of biological origin obtained from patients with colorectal cancers (databases BioGPS and GEO NCBI) was performed. For the obtained results of the comparative analysis the study of gene networks was carried out.

The study was supported by the Russian science Foundation grant № 19-14-00298.

## ПЕРЕДАЧА ПРИОНОВ ИЗ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ В КЛЕТКИ ДРОЖЖЕЙ

Куличихин К.Ю.<sup>1</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Форберг И.М.<sup>2</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, РОССИЯ, Санкт-Петербург 199034, Университетская наб 7/9

<sup>2</sup>Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE), 53175 Bonn, GERMANY

<sup>3</sup>Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA 30332-2000, USA

[Konstantin\\_kulichikhin@yahoo.com](mailto:Konstantin_kulichikhin@yahoo.com)

Белок Sup35 (ортолог фактора терминации трансляции eRF3) – один из наиболее изученных прионных белков дрожжей. Формирование приона Sup35 ( $[PSI^+]$ ) ведет к увеличению частоты прочитывания стоп-кодонов как значащих и супрессии нонсенс-мутаций. В штаммах дрожжей с нонсенс-мутацией *ade1-14* (преждевременный стоп-кодон в гене *ADE1*) это приводит к росту на минимальной среде без аденина (фенотип  $Ade^+$ ). Укороченная форма Sup35 (Sup35NM) может поддерживаться в агрегированном состоянии при экспрессии в клетках нейробластомы мыши [1], что позволяет провести сравнительный анализ механизмов возникновения и воспроизведения приона в разных организмах. Выявлено, что для агрегации в клетках дрожжей и млекопитающих необходимы различные участки N-терминального (прионного) домена Sup35 [2]. Так, в клетках млекопитающих могут поддерживаться агрегаты Sup35NM-Δ1-39 (делеция участка 1-39 а.к.), которые в дрожжах прионовую конформацию не образуют [2]. В нашей работе мы исследовали возможность передачи прионных агрегатов Sup35NM или Sup35NM-Δ1-39 из клеток культуры нейробластомы мыши в клетки дрожжей, содержащие полноразмерный Sup35, но не содержащие известных детектируемых прионов ( $[psi^- pin^-]$ ). Показано, что при трансфекции дрожжей лизатами клеток млекопитающих, содержащими агрегаты Sup35NM-Δ1-39, фенотип  $Ade^+$  (соответствует приону  $[PSI^+]$ ) обнаруживался у 18% отобранных трансфектантов, а при сверхпродукции в штамме-реципиенте белка Sup35NM-YFP – у 70%. При этом, сверхпродукция белка Sup35NM-Δ1-39-YFP не повышала частоты возникновения  $Ade^+$ . В то же время, при трансфекции лизатами, содержащими агрегаты Sup35NM, передачи приона Sup35 в клетки-реципиенты не наблюдалось, независимо от наличия или отсутствия сверхпродукции. Мы предполагаем, что хотя прионная форма Sup35NM-Δ1-39 может передаваться из клеток млекопитающих в клетки дрожжей, присутствие участка 1-39 необходимо для её дальнейшего воспроизведения в дрожжах. С другой стороны, варианты приона, формируемые полноразмерным фрагментом Sup35NM в клетках млекопитающих могут не поддерживаться или летальны в клетках дрожжей. Будут приведены результаты экспериментов, направленных на проверку этой гипотезы.

[1] Krammer et al.//2009, PNAS, V. 106(2), P.462-467.

[2] Duernberger et al.//2018, MCB, V. 38(15), e00111-18.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке стипендии «Дмитрий Менделеев» 2018 г. (СПбГУ и DAAD, стипендиат – Куличихин К.Ю.), проекта 15.61.2218.2013 (СПбГУ) с использованием оборудования РЦ «Хромас» и «РМиКТ» Технопарка СПбГУ.

## МЕЖИНДИВИДУАЛЬНАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ FDA-ОДОБРЕННЫХ БЕЛКОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ

Новикова С.Е., Фарафонова Т.Е., Шушкова Н.А., Згода В.Г.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ), 119121, Россия*

*Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8*

*[novikova.s.e3101@gmail.com](mailto:novikova.s.e3101@gmail.com)*

Протеомный состав биологического образца служит важнейшей характеристикой биологического объекта, и позволяет сделать вывод о его нормальном или патологическом состоянии. Определение белковых маркеров лежит в основе диагностики многих заболеваний, в том числе инфаркта миокарда, нарушения функций печени и почек, диабета, гормональных нарушений, воспаления и онкологических заболеваний. Направленный масс-спектрометрический анализ, а именно мониторинг выбранных реакций (selected reaction monitoring, SRM) с использованием синтетических изотопно-меченых внутренних пептидных стандартов (Isotopically labeled internal standard, SIS) является основной альтернативой методу ИФА для анализа диагностически значимых белков.

С помощью данного метода в цельной плазме крови, полученной от 8 здоровых добровольцев были проанализированы белки, рекомендованные для диагностики агентством по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA, Food and Drug Administration). В режиме динамического SRM мониторируются 912 транзиций для 300 прекурсоров, соответствующих 150 уникальным протеотипическим пептидам и их синтетическим аналогам, картируемым на 112 белков. В результате был зарегистрирован сигнал для 60 пептидов, соответствующих 46 белкам. Минимальное и максимальное содержание было определено для фактора свёртывания крови IX (фактор Кристмаса) (0,2 фмоль/мкг общего белка) и для константного участка легких цепей иммуноглобулинов каппа (1655 фмоль/мкг общего белка), соответственно. Для 28 пептидов, соответствующих 21 белку, коэффициент вариации измерений между здоровыми добровольцами оказался менее 30 %. Наибольшие изменения ( $CV > 70\%$ ) наблюдались для альфа, бета и гамма цепей фибриногена, С1-ингибитора комплемента, константного участка тяжелой цепи иммуноглобулина класса D, фибронектина, транстеритина, связывающего половые стероиды глобулина SHBG и липопротеина Lp(a).

Полученные результаты представляют собой фундаментальный научный задел для разработки диагностической тест-системы для количественного измерения с использованием направленной масс-спектрометрии белков, ассоциированных с развитием заболеваний.

## STRUCTURAL ADAPTATIONS AND SUBSTRATE INTERACTIONS IN SHORT-CHAIN NADP-DEPENDENT ALCOHOL DEHYDROGENASES FROM EXTREMOPHILIC ORGANISMS

Popinako A.V.<sup>1</sup>, Bezsudnova E.Yu.<sup>1</sup>, Popov V.O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Russia, Moscow, Leninsky Prospekt. 33, bld. 2, 119071, popinakoav@gmail.com*

Short-chain NADP-dependent alcohol dehydrogenases (SDRs) constitute one of the largest protein superfamilies known to date. SDRs is the ancient family, found in all domains of life [1], and *Archaea* are probably the earliest living organisms that occupy extreme primary habitats of the Earth. SDR from the hyperthermophilic archaeon *Thermococcus sibiricus* (TsAdh319) is notable for its exceptional stability and activity in water-organic media at high temperatures, high salt concentrations, and at the optimum temperature for the conversion of alcohols to aldehydes which exceeds 95°C [2]. Kinetic parameters for enzymatic reactions at these temperatures are close to the values determined for mesophilic SDRs at moderate temperatures. Accordingly, the conformational mobility of active site residues in SDRs from mesophilic bacteria and TsAdh319 are similar at the organisms' habitat temperatures [3]. To investigate the substrates' interaction characteristics of superthermostable TsAdh319 and homologous SDRs, we carried out the molecular docking and other molecular modeling and bioinformatics approaches. The analysis of cavities detects the active pocket, which contains of S137, D138, V139, G147, Y150, G179, A180 and G186 residues (TsAdh319 numeration). The carbonyl oxygen of some substrates forms hydrogen bonds with the hydroxyl group of S137 and Y150. Four semi-conservative residues and V139, A180 have hydrophobic contacts with substrates. The number of these hydrophobic contacts in TsAdh319 is less then these in mesophilic SDRs. The number of hydrogen bonds in psychrophilic SDRs is less then these in mesophilic. The work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant 16-34-60252).

[1]. Moummou H., The plant short-chain dehydrogenase (SDR) superfamily: genome-wide inventory and diversification patterns. // 2012, BMC Plant Biol., V.12, P.219.

[2]. Bezsudnova E., Intramolecular hydrogen bonding in the polyextremophilic short-chain dehydrogenase from the archaeon *Thermococcus sibiricus* and its close structural homologs. // 2015, Biochimie, V. 118, P.82-9.

[3]. Popinako A., The Role of Charged Residues in the Structural Adaptation of Short-Chain Alcohol Dehydrogenase (SDR) from Thermophilic Organisms to High Temperature. // 2018, Moscow Univ. Chem. Bull., V. 73, P.231-236.

## Симпозиум IX: Медицинская генетика и моделирование болезней человека / Symposium IX: Medical Genetics and Disease Modelling

### АНАЛИЗ ВЗАИМОСВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА TRIM21 СО СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ СУХОГО КЕРАТОКОНЬЮНКТИВИТА ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ ИИ БОЛЕЗНИ ШЕГРЕНА: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ.

Сафонова Т.Н.<sup>1</sup>, Зайцева Г.В.<sup>1</sup>.

1ФГБНУ «НИИ глазных болезней», ул. Россолимо, 11, А,Б, Москва, 119021, Российская  
Федерация;

[info@eyeacademy.ru](mailto:info@eyeacademy.ru)

Цель исследования – изучение полиморфных маркеров rs7947461(С/Т), rs915956 (С/Т), rs4144331 (С/А) гена TRIM21 у больных с сухим кератоконъюнктивитом при болезни Шегрена и ревматоидном артрите.

Задачи

1. Выявить мутации в гене TRIM21 в выборке пациентов с болезнью Шегрена и ревматоидным артритом методом ПДРФ-анализа и анализа кривых плавления ДНК;
2. Определить предрасположенность к сухому кератоконъюнктивиту с помощью предиктивного генетического тестирования;

Обследовано 37 пациентов (1 мужчина, 36 женщин) в возрасте от 35 до 72 лет (средний возраст 53,5 лет, с верифицированным диагнозом сухого кератоконъюнктивита при ревматоидном артрите (n=14) и болезни Шегрена (n=23). Группа контроля состояла из добровольцев без аутоиммунных заболеваний в анамнезе и отягощенной наследственности, сопоставимые по полу и возрасту с группой пациентов (n=35). Материалом для исследования служила геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови. В работе использована комбинация двух методов: анализ кривых плавления и метод определения полиморфизма длины рестриционных фрагментов ПДРФ-анализ. Изучена роль трёх rs7947461(С/Т), rs915956 (С/Т), rs4144331 (С/А) полиморфных маркеров гена TRIM21. Для предрасполагающего генотипа (ТТ) полиморфного маркера rs7947461 гена TRIM21 выявлена ассоциация с риском развития сухого кератоконъюнктивита ( $\chi^2=6.34$ ;  $OR=3.65$ ,  $CI_{95\%} = (1.15 - 11.61)$ ,  $p=0.04$ ). В исследуемой группе, частота предрасполагающего аллеля Т полиморфного маркера rs4144331 выше в 3,0 раза, по сравнению с группой контроля ( $\chi^2=8.71$ ). Относительный риск развития сухого кератоконъюнктивита повышен в 3,81 раза ( $OR=3.81$ ,  $CI_{95\%} = (1.51 - 9.62)$ ,  $p=0.003$ ). Статистически значимых различий для полиморфного маркера rs915956 (С/Т) гена TRIM21 не установлено. Полиморфизмы повышают риск возникновения сухого кератоконъюнктивита при действии различных внешних факторов, но не являются непосредственной и обязательной причиной развития патологического процесса. Выявленные особенности могут служить методом прогнозирования сухого кератоконъюнктивита.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТОТЫ ВСТРЕЧАЕМОСТИ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *ATP7B* В РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Алавердян Д.А.<sup>1</sup>, Федяков М.А.<sup>1</sup>, Полев Д.Е.<sup>2</sup>, Барбитов Ю.А.<sup>2</sup>, Шиков А.Е.<sup>1,2</sup>,  
Глотов А.С.<sup>1,2,5</sup> Романова О.В.<sup>1</sup>, Цай В.В.<sup>1</sup>, Балашова М.С.<sup>3,4</sup>, Тулузановская И.Г.<sup>3</sup>,  
Иващенко Т.Э.<sup>5</sup>, Баранов В.С.<sup>1,2</sup>, Филимонов М.И.<sup>3</sup>, Жученко Н.А.<sup>3</sup>, Игнатова Т.М.<sup>6,7</sup>,  
Асанов А.И.<sup>3</sup>, Щербак С.Г.<sup>1,2</sup>, Сарана А.М.<sup>1,2</sup>, Уразов С.П.<sup>1</sup>, Макаренко С.В.<sup>1</sup>, Глотов  
О.С.<sup>1,2,5</sup>

<sup>1</sup> СПбГБУЗ Городская больница №40, г. Санкт-Петербург, г. Сестрорецк, ул. Борисова, д.9

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский Государственный Университет, г. Санкт-Петербург, <sup>3</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, г. Москва, <sup>4</sup> Центр Генетики и Репродуктивной Медицины «Genetico», г. Москва, <sup>5</sup> ФГБНУ "НИИ Акушерства, Гинекологии и Репродуктологии им. Д.О. Отта", г. Санкт-Петербург, <sup>6</sup> ФГБУ ГНЦ РФ Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна, г. Москва, <sup>7</sup> Центр литотрипсии и эндохирургии (ЦЭЛТ)

**Введение** Болезнь Вильсона-Коновалова, или гепатоцеребеллярная дегенерация – аутосомно-рецессивное моногенное генетическое заболевание, возникающее вследствие мутаций гена *ATP7B*. Этот ген кодирует белок-транспортер меди АТФ-азу 7В, который ответственен за распределение меди, поступающей в гепатоциты. Считается, что распространенность БВК составляет примерно 1:30 000, однако в последние годы представления о частоте этого заболевания заметно меняются. Современные эпидемиологические исследования в различных странах Европы позволяют предполагать частоту БВК 1:7000-10 000, что существенно выше, чем та, о которой говорилось ранее.

**Цель** Цель данного исследования – оценить популяционную частоту мутаций в гене *ATP7B* в российской популяции.

**Материалы и методы** Было проведено высокопроизводительное секвенирование (NGS) образцов ДНК 697 человек без БВК. Секвенирование проводилось на платформе MiSeq/HiSeq 4000 Sequencing System (“Illumina”) с использованием наборов пробоподготовки KAPA Library Preparation Kit и SeqCap Adapter Kit (“Roche”). Для интерпретации полученных данных использовались критерии, предложенные в руководстве по интерпретации данных, полученных методами MPS (Massive Parallel Sequencing) [1]. Корректировка вариантов проводилась с учетом возможных ошибок в базах данных, описанных нами ранее [2]. Выявленные варианты классифицировались как патогенные, вероятно патогенные, неопределенного значения, вероятно доброкачественные и доброкачественные. Кроме этого, использовалась база данных мутаций гена *ATP7B* Университета Альберты (<http://www.wilsondisease.med.ualberta.ca/>). Вариант рассматривался как патогенный, если обнаруживалась соответствующая информация о нем в различных базах данных и литературных источниках.

**Результаты и обсуждение** У 20 из 697 обследованных были выявлены мутации гена *ATP7B*. Миссенс-мутация *ATP7B* с.3207C>A (p.His1069Gln, rs76151636, A = 0.1524%) в гетерозиготном состоянии была найдена у семи пациентов и в гомозиготном – у двух, то есть частота мутантной аллели составила 0,789%. Мутация со сдвигом рамки считывания *ATP7B* с.3402delC (p.Ala1135fs, rs187200982, delC = 0.01322%) в гетерозиготном состоянии была обнаружена у 11 пациентов, таким образом, частота делеции – 0,789%. Частота выявляемости патогенных мутаций в нашей группе выше, чем описано в литературе, и составляет 0,789% или 1/64. Высокая выявляемость может быть связана как с особенностями нашей группы, так и с использованным биоинформатическим подходом.

**Заключение** Прогнозируемая частота носительства патогенных вариантов в российской популяции, таким образом, составила 1:4000, что значительно выше описанной в литературе.

1. Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., Коновалов Ф.А., Масленников А.Б., Степанов В.А., Афанасьев А.А., Захлязьминская Е.В., Костарева А.А., Павлов А.Е., Голубенко М.В. Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS). Медицинская генетика. 2017;16(7):4-17.
2. Barbitoff Y.A., Bezdvornykh I.V., Polev D.E., Serebryakova E.A., Glotov A.S., Glotov O.S., Predeus A.V. Catching hidden variation: systematic correction of reference minor alleles in clinical variant calling» // Genetics in Medicine. 2017. Oct 26. doi: 10.1038/gim.2017.168.

## ВЛИЯНИЕ МЕЛАНКОРТИНОВОГО ОЖИРЕНИЯ НА РАЗВИТИЕ ВОСПАЛЕНИЯ В ПОЧКАХ МЫШЕЙ ЛИНИИ Au

Багинская Н.В., Логвиненко Н.С.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), Россия, Новосибирск, 630090, пр.ак.Лаврентьева,10*

*bagin@bionet.nsc.ru*

Нарушение функции почек при диабете тесно связано с воспалением, характерными признаками которого является инфильтрация ткани активированными нейтрофилами, моноцитами и макрофагами, и значительным повышением уровня экспрессии индуцибельной формы циклооксигеназы-2. Мыши с синдромом меланокортинового ожирения, гетерозиготные по доминантной летальной мутации Agouty yellow (Au) характеризуются диабетом 2 типа во взрослом состоянии. Тем не менее, основные характеристики диабетической нефропатии у этих животных изучены недостаточно. Задачей нашего исследования было изучение влияния меланокортинового ожирения на выраженность воспалительной реакции в почках Au-мышей. Для этого у 8-месячных самцов мышей Au и контрольных самцов линии C57BL/6J (B1) оценивали количество и локализацию воспалительных M1 макрофагов (МФ) и клеток, экспрессирующих индуцибельную циклооксигеназу-2 (Cox-2 клеток) в корковом слое почек. Оценку производили иммуногистохимическим методом с использованием антител к CD68 маркеру M1 макрофагов (ab53444, AbCam) и антител к циклооксигеназе-2 (sc-1747-R, Santa Cruz). Экспрессия Cox-2 выявлялась не только в MD и восходящем колоне петли Генле, где этот фермент конститутивно экспрессируется, но также в почечных клубочках и интерстициальных клетках, что указывает на рост воспалительной реакции в ткани почек. При этом у мышей Au количество Cox-2 клеток внутри клубочков было существенно больше, чем у мышей B1 ( $2,5 \pm 0,3$  и  $1, 2 \pm 0,4$  соответственно,  $p \leq 0,05$ ). МФ были обнаружены вблизи крупных кровеносных сосудов, вокруг и внутри почечных клубочков и в интерстиции между канальцами у обоих генотипов. Во всех случаях количество МФ у Au-мышей было существенно больше, чем у мышей B1 ( $p \leq 0,05$ ). Кроме того, общее количество инфильтрированных МФ клубочков также было значительно выше у самцов Au ( $67 \pm 10$  и  $17 \pm 10$  % соответственно,  $p \leq 0,01$ ). Полученные данные показывают, что признаки воспаления в корковом слое почки у мышей Au выражены в значительно большей степени, чем у мышей B1, что свидетельствуют о наличии морфологических признаков диабетической нефропатии у взрослых 8-месячных самцов мышей Au.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-04-00912 и бюджетного проекта № 0324-2019-0041

## РАЗРАБОТКА ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННОЙ КЛЕТочно-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЩА

Божокин М.С.<sup>1</sup>, Божкова С.А.<sup>1</sup> Качкин Д.В.<sup>2</sup>, Рубель А.А.<sup>2</sup> Нащекина Ю.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>РНИИТО им. Р.Р.Вредена, Россияю Санкт-Петербург. Улица Байкова 8. 195427

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Научная лаборатория биологии амилоидов. Россия. Санкт-Петербург. Университетская наб. 7/9, 199034

<sup>3</sup>Институт цитологии Российской Академии Наук. Россия. Санкт-Петербург. Тихорецкий проспект. 4. 194064

[writeback@mail.ru](mailto:writeback@mail.ru)

Способность гиалинового хряща к регенерации крайне ограничена. Возникающие в результате различных действий и факторов дефекты суставной поверхности быстро приводят к деградации неповреждённого хряща и, как следствие, неспособности сустава выполнять свою функцию. Повреждение гиалинового слоя суставного хряща в настоящее время является очень актуальной проблемой и затрагивает миллионы людей во всём мире. Несмотря на широкий спектр методик по его восстановлению данная задача в полном объёме до сих пор не решена.

Одним из перспективных направлений является замещение дефектов суставного хряща клеточно-инженерными конструкциями (КИК) на основе биodeградируемого матрикса (scaffold) и культуры аутологичных генетически-модифицированных клеток с увеличенным синтезом белков внеклеточного матрикса гиалинового хряща.

Целью данной работы являлось анализ эффектов сверхэкспрессией генов *Tgfb3* и *Sox9* внутри КИК для замещения дефектов гиалинового хряща.

Синтезированный биodeградируемый матрикс был создан из полилактида и коллагена методом лиофильной сушки. В качестве культуры клеток использовали мезенхимальные мультипотентные стромальные клетки выделенные у половозрелых крыс, что было подтверждено на проточном цитофлуориметре (не менее 96,6% CD45- и CD90+ клеток в культуре). Нами было показано, что в присутствии белков *Tgfb3* и *Sox9* в клеточной культуре происходит увеличение синтеза основных белков внеклеточного матрикса гиалинового хряща (коллаген II, агрекан), что согласуется с литературными данными. Нами были получены генетические конструкции несущие гены *Tgfb3* и *Sox9* и трансфецированы ММСК. Далее биodeградируемый носитель совмещали динамическим способом под действием  $N_2$  с модифицированной культурой клеток с подтверждением клеточной пролиферации (как на поверхности, так и внутри него) гистологическими и СЭМ методиками.

Полученный клеточно-инженерный объект с генетическими изменёнными характеристиками клеточной культуры является перспективным для замещения поверхностных дефектов гиалинового хряща, так как способен заместить повреждённый участок суставной поверхности, а также сформировать устойчивый к значительным механическим нагрузкам регенерат, остановив дальнейшую деградацию суставного хряща.

## ПРОГРЕССИРУЮЩАЯ МИОКЛОНИЧЕСКАЯ ЭПИЛЕПСИЯ ТРЕТЬЕГО ТИПА: ОТ ПАЦИЕНТА ДО ИЗУЧЕНИЯ РЕГУЛЯЦИИ КАНАЛА.

Боровиков А.О.<sup>1</sup>, Шарков А.А.<sup>2,3</sup>, Филатова А.Ю.<sup>1</sup>, Акимова И.А.<sup>1</sup>, Михайлова С.В.<sup>6</sup>,  
Марахонов А.В.<sup>1,4</sup>, Дадали ЕЛ.<sup>1,5</sup>, Скоблов М.Ю.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Медико-генетический научный центр, Российская федерация, Москва, улица Москворечье, 1; <sup>2</sup> Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева, Российская федерация, Москва, Талдомская улица, 2 ; <sup>3</sup> Геномед, Российская федерация, Москва, Варшавская улица, 50/12; <sup>4</sup> Дальневосточный федеральный университет, Российская федерация, Владивосток, улица Суханова, 8; <sup>5</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Российская федерация, Москва, улица Островитянова, 1; <sup>6</sup> Российская детская клиническая больница, Российская федерация, Москва, Ленинский проспект, 117.

[borovikov33@gmail.com](mailto:borovikov33@gmail.com)

Прогрессирующие миоклонические эпилепсии (ПМЭ) образуют группу клинически и генетически гетерогенных заболеваний, которые проявляются миоклоническими генерализованными судорогами и задержкой психо-речевого развития с дебютом в детском возрасте. Одна из редких форм ПМЭ связана с наличием у больного патогенных вариантов нуклеотидной последовательности гена *KCTD7* в гомозиготном или компаунд гетерозиготном состоянии. Продуктом данного гена является высоко консервативный среди позвоночных белок, содержащий домен тетрамеризации калиевых каналов. Нарушение функции этого гена может приводить к изменению тока ионов калия в нейронах головного мозга [1]. В мировой литературе описано 14 пациентов с данным диагнозом, подтвержденным клинически и молекулярно-генетически, и 7 пациентов с вероятно патогенными вариантами.

Под нашим наблюдением находилось 8 пациентов со средним возрастом дебюта первых приступов между 1 и 2 годами жизни после эпизода фебрильной температуры в виде внезапного падения с сохранением сознания и/или эпизодов замиранья. После этого у пациентов развилась лекарственно-резистентная генерализованная миоклоническая эпилепсия. Каждому пациенту было проведено МРТ головного мозга, продолжительный видео-ЭЭГ мониторинг, осмотр разными клиническими специалистами. После проведения секвенирования ДНК методом NGS были обнаружены 5 ранее не описанных несинонимичных варианта, 1 ранее не описанная динуклеотидная делеция со сдвигом рамки считывания в последнем экзоне. 4 пациентам, у которых при анализе методом высокопроизводительного секвенирования была заподозрена делеция, затрагивающая локус гена *KCTD7*, был выполнен хромосомный микроматричный анализ.

В результате проведенного нами молекулярно-генетического анализа у всех пациентов были выявлены варианты, находящиеся либо в сочетании с протяженными делециями, которые захватывают весь локус гена *KCTD7*, либо в компаунд-гетерозиготном состоянии с ранее описанными заменами в транспозиции по результатам сегрегационного анализа в семьях. Большая часть описанных ранее замен затрагивает ВТВ/POZ домен белка. Однако среди обнаруженных были и варианты в других областях гена. Чтобы подтвердить патогенный эффект замен на функцию гена, необходимо проведение функционального анализа, показывающего изменение локализации белка или описания типа нарушения проводящей активности канала.

[1]. Moen, M.N., et al., Pathogenic variants in *KCTD7* perturb neuronal K<sup>+</sup> fluxes and glutamine transport. 2016, *Brain*, 139(Pt 12): p. 3109-3120.

## НОВЫЙ ПОДХОД ДЕТЕКЦИИ МУТАЦИЙ ПРИ ОРФАННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ С ПОМОЩЬЮ ТАРГЕТНОГО МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

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

НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, г. Томск, ул. Набережная р. Ушайки, 10  
[vasilyeva.o.yu@gmail.com](mailto:vasilyeva.o.yu@gmail.com)

В настоящее время используется несколько способов обнаружения мутаций в геноме человека. Классическим методом выявления мутаций является секвенирование по Сэнгеру с предварительной наработкой ПЦР-продуктов, соответствующих отдельным экзонам. Но при большом количестве экзонов в гене, такой метод очень трудоемок. Более производительным является массовое параллельное секвенирование последовательности экзонов панелей генов или всего экзона. Но при этом информация о промоторе и интронах гена может быть получена только при анализе всего генома. Целью настоящей работы явилась разработка подхода к детекции мутаций, приводящих к несовершенному остеогенезу как одному из орфанных заболеваний, на основе таргетного массового параллельного секвенирования длинных ПЦР-продуктов, специфичных к генам *COL1A1*, *COL1A2*.

Такой метод включает в себя наработку длинных ПЦР-фрагментов, покрывающих весь ген, и их секвенирование с помощью массового параллельного секвенирования. Это позволяет идентифицировать мутации в экзонах, интронах и промоторе. При большом числе экзонов в гене это часто приводит к снижению числа ПЦР продуктов по сравнению с секвенированием по Сэнгеру, а значит, к снижению трудоемкости. По сравнению с секвенированием панелей генов, экзона или всего генома этот метод более экономически выгоден при небольшом количестве исследуемых генов. Кроме того, для данного подхода отсутствие частых мутаций не является ограничением, поскольку анализируется вся последовательность экзонов и интронов генов *COL1A1* и *COL1A2*.

Разработанный метод применили для анализа генов *COL1A1* и *COL1A2* у 14 пациентов с диагнозом несовершенный остеогенез. У четырех обследуемых были найдены патогенные варианты в гене *COL1A1*, и у четырех обследуемых в гене *COL1A2*. Мутация G1000A в гене *COL1A2* выявлена у трех обследуемых, являющихся родственниками. Мутации у двух пациентов не были ранее описаны у больных с диагнозом несовершенный остеогенез. Патогенные варианты не обнаружены у восьми пациентов, включенных в анализ.

Разработанный метод таргетного массового параллельного секвенирования позволяет выявлять мутации в генах *COL1A1* и *COL1A2*, менее трудозатратен и более экономически выгоден по сравнению с используемыми в настоящее время альтернативными подходами. Поэтому данный метод может быть применен для поиска мутаций и при других наследственных заболеваниях.

## НЕЙРОТОКСИЧНОСТЬ ЭКСТРАКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ СПИННО-МОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

Гараева Л.А.<sup>1,2</sup>, Штам Т.А.<sup>1</sup>, Камышинский Р.А.<sup>5</sup>, Милюхина И.В.<sup>1,2,3</sup>, Кудреватых А.В.<sup>3</sup>, Гаврилов Г.В.<sup>4</sup>, Верлов Н.А.<sup>1</sup>, Е.Ю. Варфоломеева<sup>1</sup>, А.В. Волницкий<sup>1</sup>, С.Н. Пчелина<sup>1,2,3</sup>, Емельянов А.К.<sup>1,2</sup>

1. ФБГУ «Петербургский Институт Ядерной Физики им. Б.П. Константинова  
Национального Исследовательского Центра «Курчатовский Институт»

2. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад.  
И.П. Павлова

3. НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН

4. Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова МО РФ

5. НИЦ «Курчатовский институт», Москва

[e\\_anton\\_gen@mail.ru](mailto:e_anton_gen@mail.ru)

Гибель дофаминергических нейронов черной субстанции мозга человека при болезни Паркинсона (БП) обусловлена накоплением нейротоксичных олигомерных форм белка альфа-синуклеина. В последнее время активно обсуждается трансмиссивность нейротоксических форм данного белка. Предполагается, что распространение патологических агрегатов альфа-синуклеина между нейронами носит прионоподобный характер и может происходить посредством экстраклеточных везикул (ЭВ).

Целью настоящего исследования являлась оценка влияния экзосом спинно-мозговой жидкости (СМЖ) пациентов с БП на выживаемость нейрональных клеточных линий глиального происхождения (A172 и T98G).

### *Материалы и методы*

В исследование было включено 12 пациентов с БП (средний возраст  $69.7 \pm 2.2$  лет). У каждого пациента было проведено пунктирование и забор СМЖ. ЭВ из СМЖ были выделены методом последовательного ультрацентрифугирования с последующей фильтрацией.

Оценка размера и концентрации ЭВ была произведена методом анализа траекторий наночастиц (NTA). Морфологию ЭВ оценивали с помощью криоэлектронной микроскопии. Определение наличия на поверхности мембраны ЭВ маркера экзосом CD9, а также оценка выживаемости культур клеток A172 и T98G при со-культивации их с ЭВ СМЖ пациентов с БП была произведена при помощи проточной цитометрии. Кроме этого, для оценки выживаемости клеток использовался MTS-тест. Пролиферативная активность нейрональной клеточной линии при со-культивировании с ЭВ СМЖ пациентов с БП была проведена с использованием биосенсорного клеточного анализа в режиме реального времени.

### *Результаты*

Впервые при помощи криоэлектронной микроскопии были визуализированы ЭВ, выделенные из СМЖ человека. Были выявлены везикулы различной формы с двухслойной биологической мембраной и размером 100 нм. В результате NTA-анализа ЭВ СМЖ пациентов с БП также было показано, что их средний размер составляет  $100,75 \pm 10,56$  нм. Во всех случаях было показано наличие на поверхности мембраны маркера экзосом CD9. Влияния ЭВ СМЖ пациентов с БП на пролиферативную активность, а также уровень некроза и апоптоза нейрональных клеток не обнаружено ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, полученные данные позволили впервые с использованием криоэлектронной микроскопии характеризовать ЭВ СМЖ человека, а также показать отсутствие нейротоксичности ЭВ СМЖ пациентов с БП в отношении нейрональных клеточных линий A172 и T98G.

Исследование поддержано грантом РФФИ №17-75-20159

## ЭФФЕКТЫ ГИПЕРЭКСПРЕССИИ ГЕНА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА ЧЕЛОВЕКА НА МОДЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Голомидов И.М., Латыпова Е.М., Большакова О.И., Тимошенко С.И., Саранцева С.В.  
Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального  
исследовательского центра «Курчатовский институт», Россия, Гатчина, Орлова роща д.1  
[ilia\\_stv@mail.ru](mailto:ilia_stv@mail.ru)

Болезнь Паркинсона – распространенное нейродегенеративное заболевание, которое носит как спорадический, так и семейный характер. Предполагается, что процесс дегенерации дофаминергических нейронов в черной субстанции связан с накоплением токсичных олигомерных форм альфа-синуклеина. Альфа-синуклеин – небольшой цитозольный нейрональный белок, состоящий из N-концевого домена, который принимает альфа-спиральную конформацию при взаимодействии с мембранами, NAC домен, который дает потенциал для образования  $\beta$ -структур и заряженный C-конец с несколькими сайтами фосфорилирования. Дупликации, трипликации гена, а также мутации A30P, E46K, H50Q, A53T приводят к семейной форме заболевания.

Для анализа функциональной активности альфа-синуклеина в качестве модельного объекта была использована *Drosophila melanogaster*. Были использованы линии, несущие вставку гена дикого типа альфа-синуклеина человека (SNCA.WT), а также двух его мутантных форм – A30P (SNCA.A30P) и A53T (SNCA.A53T). Для экспрессии альфа-синуклеина только на стадии имаго была использована TARGET система, позволяющая запускать экспрессию целевого гена при 29<sup>0</sup>C и блокировать экспрессию при 18<sup>0</sup>C.

Дизайн эксперимента: экспрессия альфа-синуклеина запускалась в нервных клетках дрозофилы в течение 2 недель, далее экспрессия блокировалась и развитие особей продолжалось при 18<sup>0</sup>C еще 2 недели. В ходе эксперимента анализировались следующие показатели: уровень локомоторной активности, уровень дегенерации дофаминергических нейронов, а также уровень экспрессии синаптических белков.

В результате показано, что экспрессия альфа-синуклеина оказывает значительное влияние на уровень экспрессии других синаптических белков – синаптотагмина-1 и нейронального синаптотренина, которые также участвуют в процессах высвобождения нейротрансмиттеров и взаимодействуют с комплексом SNARE. Уровень экспрессии данных синаптических белков снижался и после остановки экспрессии не восстанавливался. Более того, экспрессия синаптотагмина продолжала снижаться и после блокировки экспрессии альфа-синуклеина. Также экспрессия альфа-синуклеина сопровождалась гибелью дофаминергических нейронов и снижением уровня локомоторной активности. При супрессии экспрессии альфа-синуклеина наблюдалось значительное замедление нейродегенерации и сохранения уровня локомоции.

## С ЧЕМ СВЯЗАНА УСТОЙЧИВОСТЬ К РАЗВИТИЮ ОЖИРЕНИЯ У САМОК МЫШЕЙ?

Гончар А.Д.<sup>1</sup>, Макарова Е. Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет, Российская Федерация, Новосибирск, ул. Пирогова, 1; <sup>2</sup>Институт Цитологии и Генетики СО РАН.

[alenich328@mail.ru](mailto:alenich328@mail.ru)

Диета, богатая жирами и углеводами, способствует развитию ожирения и диабета 2-го типа. Однако среди лабораторных животных, так же, как и среди людей, наблюдается вариабельность в ответе на потребление сладко-жирной пищи - у кого-то развивается ожирение, а у кого-то - нет. Вопрос, почему одни едят сладости и не толстеют, а другие - стремительно набирают вес, является одной из насущных проблем современного общества. Описание метаболических характеристик, связанных с устойчивостью к развитию ожирения, необходимо для выявления механизмов, способствующих адаптации к высококалорийной нагрузке и препятствующих развитию ожирения и диабета.

**Цель:** выявление особенностей метаболизма, связанных с устойчивостью к развитию ожирения у самок мышей в условиях содержания на диете, индуцирующей ожирение.

Самок мышей линии C57Bl после отъема от матерей содержали на стандартной диете до 16-ти недельного возраста и затем в течение 8 недель на диете, индуцирующей ожирение (ДИО). Контрольная группа получала стандартный корм. Самок, получавших ДИО, по весу тела разделили на устойчивых (не отличались от контроля) и склонных (превосходили по весу контроль) к ожирению. Оценивали массу тела до и во время содержания на ДИО, толерантность к глюкозе и инсулину, биохимические показатели крови, экспрессию генов, вовлеченных в регуляцию углеводно-жирового обмена в ЦНС (гипоталамус) и периферических органах (печень, бурый и белый жир, мышцы) после содержания на ДИО.

**Результаты:** устойчивые и склонные к ожирению мыши различались по скорости роста в пубертатный период при содержании на стандартной диете в период, предшествующий предъявлению ДИО - устойчивые росли медленнее склонных, что может быть прогностическим признаком предрасположенности к развитию ожирения. Устойчивые и склонные к ожирению мыши не различались по экспрессии генов гипоталамуса, регулирующих потребление и расход энергии. У ожиревших мышей были повышены уровни глюкозы и холестерина в крови, снижены толерантность к глюкозе и инсулину. У устойчивых к ожирению мышей уровни холестерина, глюкозы и чувствительность к инсулину были в норме, а экспрессия гена рецептора инсулина (InsR) была увеличена в печени и жировой ткани по сравнению с контрольными и склонными к ожирению мышами. Повышение экспрессии InsR может быть тем адаптивным механизмом, который способствует поддержанию чувствительности к инсулину и противодействует развитию ожирения и диабета при потреблении ДИО.

**Благодарности:** Работа поддержана бюджетным проектом № 0324-2019-0041.

## СУЩЕСТВЕННЫЙ ВКЛАД МУТАЦИЙ ГЕНА *SLC26A4* В ЭТИОЛОГИЮ НАСЛЕДУЕМОЙ ПОТЕРИ СЛУХА У КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ ТЫВА

Данильченко В.Ю.<sup>1</sup>, Зыцарь М.В.<sup>1</sup>, Маслова Е.А.<sup>1,2</sup>, Бады-Хоо М.С.<sup>3</sup>, Морозов И.В.<sup>2,4</sup>, Бондарь А.А.<sup>4</sup>, Посух О.Л.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1; <sup>3</sup>Перинатальный центр Республики Тыва, Россия, Кызыл, ул. Оюна Курседи, 159А; <sup>4</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 8 [mikhalskaya@bionet.nsc.ru](mailto:mikhalskaya@bionet.nsc.ru)

Мутации в гене *SLC26A4* (*pendrin*, 7q22-q31, 21 экзон) являются существенной генетической причиной потери слуха во многих популяциях. *SLC26A4* кодирует трансмембранный белок пендрин - многофункциональный анионный транспортер, который экспрессируется в тканях внутреннего уха, щитовидной железы и почек. Мутации в *SLC26A4* приводят к рецессивно наследуемой потере слуха (DFNB4), как правило, сопровождающейся аномалиями развития структур внутреннего уха и некоторыми формами синдрома Пендреда, характеризующегося потерей слуха, аномалиями улитки и дисфункцией щитовидной железы. В настоящее время известно более 500 мутаций в гене *SLC26A4* (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/>).

Ранее нами было показано, что у 21.8% (48 из 220 обследованных) глухих больных (коренных жителей Республики Тыва) причиной потери слуха является присутствие биаллельных рецессивных мутаций гена *GJB2*, наиболее значимого в этиологии потери слуха. В данной работе приводятся результаты секвенирования по Сэнгеру всех 21 экзона и значимых фланкирующих участков гена *SLC26A4* в большой когорте *GJB2*-негативных тувинских больных (n=141). Уже известные патогенетические варианты в гене *SLC26A4* (с.919-2А>G, с.170С>А, с.2027Т>А, с.2034+1G>А) были выявлены в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии у 40 таких больных. У ряда больных были обнаружены также новые *SLC26A4*-варианты, клиническую значимость которых необходимо подтвердить. У существенной части пациентов в анамнезе была указана дисфункция щитовидной железы. В настоящее время проводятся работы по полному клиническому обследованию (включая КТ и МРТ) всех больных, имеющих *SLC26A4*-варианты. Кроме того, секвенирование гена *SLC26A4* было проведено и в выборке больных, имеющих только одну рецессивную мутацию в гене *GJB2* (n=31) с невыясненной причиной потери слуха. 7 таких больных оказались гомозиготами или компаунд-гетерозиготами по рецессивным мутациям в гене *SLC26A4* (генотипы с.[919-2А>G;919-2А>G] и с.[919-2А>G;2034+1G>А]), что позволяет сделать вывод о том, что они являются только случайными носителями рецессивной *GJB2*-мутации, в то время как потеря слуха у них обусловлена биаллельными мутациями в гене *SLC26A4*. Таким образом, патогенетический вклад мутаций гена *SLC26A4* в этиологию потери слуха у тувинских больных (не менее 21.4%, 47 из 220 больных) сопоставим со вкладом, определяемым мутациями гена *GJB2* (21.8%).

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН №0324-2018-0016 и грантов РФФИ: 17-29-06016\_офи-м, 18-34-00166\_мол-а.

## ПОЛИМОРФИЗМ rs590352 (C>G) ГЕНА *ATXN7L3B* И РИСК РАЗВИТИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Дегтярева А.О.<sup>1,2</sup>, Леберфарб Е.Ю.<sup>1,2</sup>, Брызгалов Л.О.<sup>1</sup>, Брусенцов И.И.<sup>1</sup>, Воевода М. И.<sup>1</sup>, Аутеншлюс А. И.<sup>2</sup>, Максимов В. Н.<sup>1,2</sup>, Морозов Д. В.<sup>3</sup>, Соколов А.В.<sup>3</sup>, Меркулова Т.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ ИЦиГ СО РАН, РФ, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10

<sup>2</sup>ГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, РФ, г. Новосибирск, Красный пр., 52

<sup>3</sup>ГБУЗ НСО городская клиническая больница №1

[Degtyareva\\_rso@mail.ru](mailto:Degtyareva_rso@mail.ru)

Ранее нами был разработан новый биоинформатический подход для выявления регуляторных полиморфизмов (rSNP), основанный на анализе полногеномных данных по аллель-асимметрии связывания белков хроматина и транскрипционных факторов и аллель-асимметрии экспрессии генов [1]. С помощью разработанного подхода и использования данных ICGC (International Cancer Genome Consortium) было выявлено 30 rSNP, потенциально связанных с колоректальным раком. По 6 полиморфизмам было проведено генотипирование на 160 пациентах с колоректальным раком и 185 здоровых людях в возрасте 50-80 лет. Для трех полиморфизмов (rs2072580, rs4796672, rs590352) была установлена связь с заболеванием. Для rs590352 было показано, что люди с генотипом CC (CC vs GG + GC) имеют повышенный риск развития колоректального рака (OR=1,7, p-value=0.02). Более выраженная взаимосвязь генотипа с риском заболевания выявлена у мужчин (OR=2, p-value=0.02). Анализ доступных данных RNA-seq проекта ENCODE для 23 гетерозиготных по rs590352 клеточным линиям выявил увеличение экспрессии аллеля G. По литературным данным продукт гена *ATXN7L3B* влияет на работу гистонацетилацетилтрансферазного комплекса SAGA, осуществляющего котранскрипционные модификации хроматина [2]. Показано, что повышенная экспрессия *ATXN7L3B* приводит к снижению активности компонента комплекса SAGA – деубиквитиназы, в результате чего повышается уровень убиквитинированного гистона (H2Bub1). Имеются данные о подавляющем влиянии H2Bub1 на прогрессию опухолей, и о снижении его уровня на поздних стадиях рака молочной железы, легких, прямой кишки [3]. Таким образом, основываясь на наших данных и данных литературы, возможно предположение об онкопротективном эффекте аллеля G rs590352 гена *ATXN7L3B*.

[1]. Korbolina E.E. et al., Novel approach to functional SNPs discovery from genome-wide data reveals promising variants for colon cancer risk. // 2018, Hum Mutat, V.39 (6), P.851-859

[2]. Li W. et al., Cytoplasmic ATXN7L3B Interferes with Nuclear Functions of the SAGA Deubiquitinase Module. // 2016, Mol Cell Biol., V. 36(22), P. 2855-2866

[3]. Urasaki Y. et al., Coupling of glucose deprivation with impaired histone H2B monoubiquitination in tumors. // 2012, PLoS One., V. 7(5), P. e36775

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ

№18-29-09041

## ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ РЕЦЕПТОРОВ ВАЗОПРЕССИНА НА НАТРИЙУРЕТИЧЕСКУЮ ФУНКЦИЮ ПОЧЕК ПРИ СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ (КРЫСЫ ЛИНИИ НИСАГ)

Дубинина А.Д.<sup>1</sup>, Иванова Л.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Россия, Новосибирск, пр. ак.

Лаврентьева, 10

[dubinina\\_anastas@mail.ru](mailto:dubinina_anastas@mail.ru)

При стойкой артериальной гипертензии развиваются механизмы адаптации к высокому артериальному давлению. Одним из таких механизмов является более выраженная натрийуретическая реакция на функциональные солевые нагрузки, которая свидетельствует об адаптивном изменении активности факторов регуляции водно-солевого баланса, таких как вазопрессин. Известно, что в пределах физиологических концентраций вазопрессин оказывает антидиуретическое и антинатрийуретическое действие через V2 рецепторы, но при более высоких концентрациях активизирует V1a рецепторы, что вызывает торможение реабсорбции натрия в канальцах и ограничивает V2-зависимый антидиурез [1]. Целью данной работы было оценить влияние неселективной блокады рецепторов вазопрессина на натрийуретическую функцию почек при артериальной гипертензии (крысы линии НИСАГ с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией).

Показано, что у крыс НИСАГ в ответ на пероральную изоосмотическую нагрузку раствором хлорида натрия развивается более выраженная натрийуретическая реакция по сравнению с нормотензивными крысами WAG. Введение неселективного антагониста рецепторов вазопрессина усиливало диуретическую реакцию у крыс обеих линий. При этом только у крыс WAG изменение диуретической реакции сопровождалось увеличением эффективности выведения натрия. Данные межлинейные различия могут свидетельствовать о более выраженном торможении секреции вазопрессина у крыс НИСАГ при объемной нагрузке, которое способствует развитию интенсивного натрийуреза.

Различия реакции почек крыс исследуемых линий на гиперосмотическую нагрузку хлоридом натрия менее выражены и заключаются в высокой скорости прироста натрийуреза у крыс НИСАГ. При блокаде рецепторов вазопрессина развитие реакции на нагрузку у крыс НИСАГ затормаживается, что приводит к снижению эффективности выведения жидкости и натрия. При этом у крыс WAG блокада рецепторов, напротив, не влияет на скорость развития натрийуретической реакции, но приводит к увеличению ее интенсивности. Такие разнонаправленные эффекты введения антагониста крысам исследуемых линий могут указывать на вовлечение разных типов рецепторов вазопрессина в развитие реакции на гиперосмию.

Таким образом, адаптивное изменение реакции почек на увеличение объема внеклеточной жидкости и/или ее осмолярности при индуцируемой стрессом артериальной гипертензии (крысы НИСАГ), по-видимому, обусловлено повышением чувствительности секреции вазопрессина к сдвигам водно-солевого баланса.

[1]. Perucca J., Bichet D.G., Bardoux P. et al. Sodium excretion in response to vasopressin and selective vasopressin receptor antagonists. // 2008, J. Am. Soc. Nephrol., V. 19(9). P. 1721-1731.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке бюджетного финансирования по государственному заданию (проект № 0324-2019-0041).

## РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ МУТАЦИИ c.35delG (ГЕН *GJB2*), АССОЦИИРОВАННОЙ С ПОТЕРЕЙ СЛУХА, У НАСЕЛЕНИЯ РОССИИ И РЕКОНСТРУКЦИЯ ПРЕДКОВЫХ ГАПЛОТИПОВ, ВКЛЮЧАЮЩИХ c.35delG, В РЕГИОНАХ СИБИРИ

Зыцарь М.В.<sup>1</sup>, Бады-Хоо М.С.<sup>2</sup>, Данильченко В.Ю.<sup>1</sup>, Бондарь А.А.<sup>3</sup>, Морозов И.В.<sup>3,4</sup>,  
Барашков Н.А.<sup>5,6</sup>, Соловьёв А.В.<sup>5,6</sup>, Максимов В.Н.<sup>1</sup>, Посух О.Л.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>Перинатальный центр Республики Тыва, Россия, Кызыл, ул. Оюна-Курседи, 159А; <sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 8; <sup>4</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1; <sup>5</sup>Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Россия, Якутск, ул. Сергеляхское шоссе, 4; <sup>6</sup>Институт естественных наук, Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Россия, Якутск, ул. Кулаковского, 46.

[Zytzar@bionet.nsc.ru](mailto:Zytzar@bionet.nsc.ru)

Изучение закономерностей накопления мутаций гена *GJB2*, наиболее значимого в этиологии наследственной потери слуха, в различных регионах мира актуально как для медико-генетических, так и популяционных и эволюционно-исторических исследований. У русских пациентов, проживающих в Сибири, нами была выявлена мутация c.35delG, характерная для европейских популяций. Согласно общепринятой гипотезе, мутация c.35delG впервые возникла на Ближнем Востоке или в Средиземноморье ~ 10000-14000 лет назад и распространилась по всей Европе с неолитическими миграциями. Данные о распространённости c.35delG уже получены для большинства регионов мира, однако в России соответствующие данные до настоящего времени имелись, в основном, для центральных регионов страны. Мы впервые показали, что частота гетерозиготного носительства c.35delG в популяционной выборке из г.Новосибирска (Западная Сибирь) (преимущественно русские, n=122) составляет 4.1%. Эти данные дополняют сведения о распространённости c.35delG на территории России: наблюдается широкая этно-географическая вариация частоты гетерозиготного носительства c.35delG (0-7.5%) с тенденцией снижения с запада на восток, а территория Восточной Сибири, вероятно, является «конечной точкой» распространённости c.35delG в Евразии. Для проверки гипотезы общего происхождения c.35delG, мы реконструировали гаплотипы с c.35delG и оценили приблизительный возраст c.35delG в Сибири. У глухих пациентов, гомозиготных по c.35delG, и слышащих индивидуумов, не имеющих этой мутации, было проведено генотипирование STR-маркеров (D13S141, D13S175 и D13S1853), фланкирующих на разном расстоянии ген *GJB2*. Два наиболее частых c.35delG-гаплотипа были выявлены у гомозигот по c.35delG из Сибири и их идентичный аллельный состав был установлен в географически отдалённых регионах: Сибирь и Волго-Уральский регион (Россия) и Беларусь (Восточная Европа), что свидетельствует в пользу общего происхождения c.35delG в этих регионах. Полученная нами грубая датировка «возраста» c.35delG на территории Сибири (~ 8100-4800 лет) является, вероятно, отражением сложных процессов раннего формирования населения Европы (включая европейскую часть России), поскольку современное европеоидное население Сибири сформировалось в результате многократных миграционных потоков из европейской части России, стартовавших с конца XVI века.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН №0324-2018-0016 и грантов РФФИ: 18-34-00166\_мол-а и 17-29-06016\_офи-м.

## РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПОДХОДОВ ОЦЕНКИ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Кисель Э.В.<sup>1</sup>, , Леонова Т.С.<sup>1</sup>, Горбач Д.П.<sup>2</sup>, Бабаков В.Н.<sup>3</sup>, Романовская Е.В.<sup>1</sup>, Билова Т.Е.<sup>4</sup>, Вессйоханн Л.А.<sup>5</sup>, Фролов А.А.<sup>1,5</sup>.

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра биохимии, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная 7-9; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра цитологии и гистологии, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная 7-9; <sup>3</sup>Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека, Россия, г.п. Кузьмоловский, ст. Капитолово, корп. №93; <sup>4</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Кафедра физиологии и биохимии растений, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная 7-9; <sup>5</sup>Институт биохимии растений Лейбница, Департамент биоорганической химии, Германия, Халле.

[elana.kysil@gmail.com](mailto:elana.kysil@gmail.com)

Органические соединения растительного происхождения рассматриваются сейчас как один из наиболее перспективных источников новых лекарственных препаратов. Эти соединения крайне разнообразны по своей структуре, благодаря чему растительные экстракты могут обладать широким спектром эффектов на организм человека. В связи с этим необходимой является разработка эффективных многоуровневых тест-систем для оценки их лекарственных свойств.

В современном мире болезни Паркинсона и Альцгеймера являются одной из основных причин дисфункции мозга, приводящей к резкому ухудшению качества жизни больных и оканчивающейся их скорой гибелью. Несмотря на то, что жертвами этих заболеваний в основном являются пожилые люди, они имеют серьезное социальное влияние. Принимая во внимание растущее количество людей, страдающих от нейродегенеративных заболеваний, остро стоит проблема разработки эффективной терапии и поиска новых лекарственных средств. Развитию нейродегенеративных заболеваний, как и ряда других патологических состояний (например, диабета, сердечно-сосудистых заболеваний), часто также способствуют воспалительные процессы.

В качестве перспективной модели для первичного скрининга эффектов растительных соединений на течение болезней Паркинсона и Альцгеймера могут рассматриваться клетки нейробластомы человека линии SH-SY5Y. Для моделирования болезни Паркинсона используется фармакологическое воздействие (MPP<sup>+</sup> и паракват) на предварительно дифференцированные клетки нейробластомы, а также конститутивная сверхэкспрессия гена SNCA (кодирующего белок альфа-синуклеин). Разрабатываемая модель болезни Альцгеймера основывается на воздействии на клетки токсичными формами олигомеров Аβ, а также конститутивной сверхэкспрессии гена APP (кодирующего белок предшественник амилоида). Эффективность растительных экстрактов оценивается в тестах цитотоксичности (МТТ, лактатдегидрогеназный тест, тесты на клеточном анализаторе xCELLigence), апоптоза (активация каспаз) и продукции активных форм кислорода. Противовоспалительные эффекты оцениваются при помощи тестов цитотоксичности, мультиплексного анализа и анализа протеома клеток с использованием SILAC.

Показавшие эффективность соединения можно переносить в более сложные тест-системы, основанные на использовании животных (двукрылых насекомых (*Drosophila melanogaster*), рыб (*Danio rerio*) и млекопитающих).

## ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО РАКА ПОЧКИ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК

Климентова Е.А.<sup>1</sup>, Гилязова И.Р.<sup>1</sup>, Измайлов А.А.<sup>2</sup>, Султанов И.М.<sup>2</sup>, Бермишева М.А.<sup>1</sup>, Павлов В.Н.<sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Российская Федерация, г.Уфа, ул. Проспект Октября 71, 450054*

<sup>2</sup> *Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Башкирский государственный медицинский университет, Российская Федерация, г.Уфа, ул. Ленина 3, 450008*

*lissa987@yandex.ru*

Рак почки (РП)- это гетерогенная группа злокачественных опухолей, подавляющее большинство которых представляют собой почечно-клеточные карциномы (ПКК) различных морфологических типов. МикроРНК играют важную роль в различных физиологических и патологических процессах, включая метастазирование опухоли. Учитывая то, что в настоящее время не существует генетических маркеров прогноза метастазирования опухоли почки, актуальным является создание системы прогностических маркеров для формирования групп лиц, имеющих повышенный риск инвазивного роста опухоли с целью планирования необходимых профилактических мероприятий и выбора тактики лечения.

Исследование профиля экспрессии 758 генов 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 СРП с использованием технологии OpenArray на приборе QuantStudio 12K Flex Real-Time PCR System.

В настоящем исследовании мы обнаружили, что экспрессия микроРНК-199b (FDR p-value=0,0001) и микроРНК-582 (FDR p-value=0,0001) была значительно снижена при метастатическом СРП, чем таковая в прилежащей нормальной ткани и первичной опухоли. Эти микроРНК ранее не были описаны при раке почки, но есть сообщения об изменении их экспрессии в других типах рака. Например, было выявлено повышение экспрессии микроРНК-199b у пациентов с отсеосаркомой в опухоли по сравнению с нормальной тканью, а также было показано, что микроРНК-199b влияет на путь Notch, который играет ключевую роль в нормальном развитии многих тканей и типов клеток за счет разнообразных эффектов на клеточную судьбу, обновление стволовых клеток, дифференцировку, выживание и пролиферацию. Исследование уровня экспрессии микроРНК-582 при раке мочевого пузыря продемонстрировали его снижение и корреляцию со степенью злокачественности опухоли. Эксперименты на клеточных линиях показали, что восстановление уровня экспрессии микроРНК-582 ингибировало пролиферацию и инвазию клеток. Учитывая описанные в литературе гены-мишени данных микроРНК и процессы, в которых они участвуют, можно предположить вклад микроРНК-199b и микроРНК-582 в инвазию и миграцию опухолевых клеток и, следовательно, в процессы метастазирования.

**Благодарности.** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №17-44-020050.

## РАЗРАБОТКА КОМПЬЮТЕРНОЙ БАЗЫ ДАННЫХ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА В ГЛИОМАХ

Орлов Ю.Л.<sup>1,2</sup>, Ковалев С.С.<sup>1</sup>, Бабенко В.Н.<sup>1,2</sup>, Леберфарб Е.Ю.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН» (ИЦиГ СО РАН), Россия, Новосибирск, 630090, пр-т. Лаврентьева, 10

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет (НГУ), Россия, Новосибирск, 630090, ул.Пирогова, 1

<sup>3</sup>Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ), Россия, Новосибирск, 630091, Красный проспект, 52,  
[orlov@bionet.nsc.ru](mailto:orlov@bionet.nsc.ru)

Исследование экспрессии генов в клетках глиобластомы, поиск генов кандидатов для терапевтического воздействия имеют несомненную актуальность в здравоохранении, современной высокотехнологичной медицине [1]. Глиальные опухоли составляют большинство первичных опухолей центральной нервной системы у взрослых и включают целый спектр опухолей, различающихся по уровню клеточной дифференциации и злокачественности. Фундаментальные биомедицинские исследования в онкологии, поиск новых маркеров развития опухолей, требуют развития современных пост-геномных исследований экспрессии генов на культурах клеток глиом, таких как транскриптомное профилирование, анализ экспрессии генов и их изоформ. В свою очередь, такие эксперименты требуют разработки новых компьютерных инструментов анализа объемных данных секвенирования. Цель нашего исследования – компьютерный поиск генов и их изоформ, нарушение экспрессии которых связано с развитием глиобластом, с помощью современных высокопроизводительных технологий секвенирования транскриптом и международных биомедицинских банков данных. В данной работе мы рассматриваем задачи биоинформатики, связанные с разработкой компьютерных конвейеров обработки транскриптомных данных, определения дифференциально экспрессирующихся генов, анализа альтернативного сплайсинга, описания категорий генных онтологий для найденных групп генов. Обсуждаются задачи автоматического поиска и описания функций генов в связи с раковыми заболеваниями, визуализации результатов и разработки биомедицинских баз данных. Представлен прототип базы данных дифференциального альтернативного сплайсинга генов – «Дифференциальный альтернативный сплайсинг генов человека при вторичной глиобластоме (ДАСГГ)», с возможностью работы через веб-сайт, поиска уровней экспрессии отдельных изоформ в глиальной опухоли. Представленные в базе данные по дифференциальному альтернативному сплайсингу могут быть использованы в фундаментальных исследованиях по стволовым клеткам глиом и в разработке диагностик.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ и бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН

[1]. Babenko V.N., Gubanov N.V., Bragin A.O., Chadaeva I.V., Vasiliev G.V., Medvedeva I.V., Gaytan A.S., Krivoshapkin A.L., Orlov Y.L., Computer Analysis of Glioma Transcriptome Profiling: Alternative Splicing Events. // 2017, J Integr Bioinform. 2017. V.14(3), pii: /j/jib.2017.14.issue-3/jib-2017-0022/jib-2017-0022.xml. doi: 10.1515/jib-2017-0022

## ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В РАБОТУ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ, ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА (БП) НА МОДЕЛИ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК (ИПСК) ЧЕЛОВЕКА, ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИХСЯ В НЕЙРОНАЛЬНОМ НАПРАВЛЕНИИ.

Ковалёва Г.В.<sup>1</sup>, Новосадова Е.В.<sup>1</sup>, Макарова И.В.<sup>1</sup>, Андреева Л.Е.<sup>1</sup>, Щербатова Н.А.<sup>1</sup>, Козицова Л.В.<sup>2</sup>, Тарантул В.З.<sup>1</sup>, Ненашева В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Россия, Москва, 123182, пл. Курчатова, д.2; <sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного ... научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста». Санкт-Петербург-Пушкин, Россия;  
[winter888@bk.ru](mailto:winter888@bk.ru)

В последние годы появился ряд публикаций, указывающих на взаимосвязь нарушений иммунной системы с нейродегенеративными заболеваниями человека. Поскольку изучение нейродегенеративных процессов непосредственно в мозге человека невозможно, особый интерес вызывает моделирование различных заболеваний центральной нервной системы. Известно, что гены семейства TRIM вовлечены в первую очередь в работу врожденной иммунной системы. Однако постепенно накапливаются данные об их участии в различных процессах в мозге, в том числе патологических.

Мы исследовали участие гена *TRIM14* и ассоциированных с ним генов в процессах нейрональной дифференцировки на модели ИПСК человека, полученных от здоровых людей и пациентов с генетическими формами БП.

В своей работе мы показали, что при дифференцировке ИПСК с мутацией в гене *PARK2* происходит повышение экспрессии *TRIM14* в нейрональных предшественниках (НП) и ее понижение в зрелых нейронах (по сравнению с контролем).

Исследование транскрипции ряда генов, связанных с работой гена *TRIM14*, участвующих в работе врожденного и адаптивного иммунитета, показало, что в репрограммированных клетках пациентов с генетическими формами БП происходят сходные изменения по сравнению с контрольными клетками, которые не полностью коррелируют с изменениями экспрессии гена *TRIM14*. Так, в ИПСК большинства пациентов с БП наблюдалось значительное понижение транскрипции генов *TRIM14*, *HLX* и *PRR13*, в то время как экспрессия гена *BAFFR*, напротив повышалась. В то же время при дифференцировке в НП клетки с мутацией в гене *PARK2* показывали значительное усиление транскрипции практически всех исследованных генов.

Возможно, что активация иммунной системы на ранних стадиях нейрональной дифференцировки является одной из особенностей наследственной формы БП с мутацией в *PARK2*. В терминально дифференцированных нейронах транскрипция большинства исследуемых генов значительно увеличивалась в клетках всех пациентов с БП по сравнению с клетками здоровых доноров. Таким образом, нами впервые обнаружены изменения в экспрессии ряда генов, вовлеченных в работу разных ветвей иммунитета (врожденного и адаптивного), которые свидетельствуют об их возможном участии в нейродегенеративных процессах на ранних стадиях развития БП. Полученные данные подтверждают уже имеющиеся ранее факты, свидетельствующие о вовлеченности различных механизмов иммунной системы в патогенез БП.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ (18-34-00484; 17-29-06008, 18-04-00733).

## СПЕКТР МУТАЦИЙ, ВЫЯВЛЯЕМЫХ ПРИ КЛИНИЧЕСКОМ ЭКЗОМНОМ СЕКВЕНИРОВАНИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Козина А.А.<sup>1,2,3</sup>, Окунева Е.Г.<sup>1</sup>, Барышникова Н.В.<sup>1,2</sup>, Портной С.М.<sup>4</sup>, Красненко А.Ю.<sup>1</sup>, Цуканов К.Ю.<sup>1</sup>, Шаталов П.А.<sup>1,2</sup>, Ильинский В.В.<sup>1,2,3,5</sup>

1. ООО «Генотек», г. Москва, Наставнический переулок, д.17/1

2. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, ул.Островитянова, д.1

3. Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, г. Москва, ул. Погодинская, д.10, стр.8

4. ООО «Фрау Клиник», г. Москва, ул. Гиляровского, 55

5. Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова, г. Москва, ул. Губкина, д.3  
[doctor@genotek.ru](mailto:doctor@genotek.ru)

Рак молочной железы (РМЖ) относится к наиболее распространённым онкологическим заболеваниям. Наследственные формы составляют 5–10% случаев РМЖ, обусловленного мутациями в генах наследственной предрасположенности к РМЖ. Мутации в генах высокой пенетрантности BRCA1/2 обуславливают 30% случаев наследственного РМЖ.

Нами обследованы 32 пациентки в возрасте от 30 до 71 года с направляющим диагнозом РМЖ. У всех 32 пациенток (100%) отмечается наследственная отягощенность по онкологическим заболеваниям у ближайших родственников (РМЖ, рак матки, рак легкого, рак прямой кишки, меланома кожи, рак мочевого пузыря, рак предстательной железы и др.) У 17 женщин (53%) при предварительном обследовании частые мутации в генах BRCA1, BRCA2, CHEK2 не выявлены.

В результате клинического экзомного секвенирования у 23 женщин (72%) выявлены мутации в генах, ассоциированных с предрасположенностью к РМЖ, и/или в общих онкогенах: 9 пациенток (28%) оказались BRCA-положительными, у 14 пациенток (44%) обнаружены мутации в других генах. У 9 пациенток (28%) патогенные/вероятно патогенные мутации в генах, связанных с предрасположенностью к РМЖ не выявлены.

Генетический профиль у BRCA-положительных пациенток с РМЖ: мутация в гене BRCA1 (2 пациентки), сочетание мутаций в генах BRCA1 и TP53 (1 пациентка), сочетание мутаций в генах BRCA1, BRCA2 и STK11 (1 пациентка), 2 мутации в генах BRCA2 (1 пациентка), сочетание мутаций в генах BRCA2, TEP1 и WRN (1 пациентка), сочетание мутаций в генах BRCA2 и PALB2 (1 пациентка), сочетание мутаций в генах BRCA2 и ESR1 (1 пациентка), сочетание мутаций в генах BRCA2 и BRIP1 (1 пациентка).

Генетический профиль BRCA-отрицательных пациенток с РМЖ: мутация в гене STK11 (2 пациентки), мутация в гене NBN (1 пациентка), мутация в гене ESR1 (1 пациентка), сочетание мутаций в генах RAD51C и SDHD (1 пациентка), сочетание мутаций в генах CDH1, PMS1 и RAD51D (1 пациентка), сочетание мутаций в генах BAP1 и RAD50 (1 пациентка), мутация в гене ATM (1 пациентка), мутация в гене BRIP1 (1 пациентка), сочетание мутаций в генах ATM и BRIP1 (1 пациентка), мутация в гене MUTYH (1 пациентка), SDHD (1 пациентка), сочетание мутаций в генах PRLR и MLH3 (1 пациентка), мутация в гене MSH6 (1 пациентка).

Дальнейшее изучение генетического профиля пациентов с РМЖ, особенно с отягощенным семейным анамнезом по иным онкологическим заболеваниям, расширит представление о патогенетических механизмах развития опухолей и позволит улучшить прогнозирование онкологических процессов.

## ОСОБЕННОСТИ НОВЫХ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ФОРМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОК

Лаптиев С.А.<sup>1</sup>, Корженевская М.А.<sup>1</sup>, Соколенко А.П.<sup>2</sup>, Иевлева А.Г.<sup>2</sup>, Имянитов Е.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6-8; <sup>2</sup>НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, Россия, 197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, 68

**Введение.** Среди всех онкологических заболеваний рак молочной железы (РМЖ) относится к одним из самых частых разновидностей семейных форм рака. От 5 до 10% случаев РМЖ являются наследственными [1, 2]. Интересной особенностью российских пациенток с наследственным РМЖ является относительно высокая частота мутаций в генах *BRCA1*, *CHEK2*, *NBS1* и *BLM* [2]. В отличие от *BRCA1*-ассоциированных карцином молочной железы, особенности которых уже достаточно хорошо исследованы, свойства *CHEK2*-, *NBS1*- и *BLM*-ассоциированного РМЖ практически не изучались до настоящего времени.

**Цель.** Изучение клинико-биологических особенностей РМЖ, детерминированных повторяющимися мутациями в генах *CHEK2*, *NBS1* и *BLM*.

**Материалы и методы.** Основным материалом для исследования послужили случаи *CHEK2*-, *NBS1*- и *BLM*-ассоциированного РМЖ, выявленные посредством проспективного и ретроспективного анализов обширных групп б. Для генотипирования были отобраны 1083 пациентки и 220 архивных образцов опухолей. ДНК-диагностику проводили методом аллель-специфической ПЦР. Сравнительные характеристики наследственных и спорадических опухолей молочной железы представлены ниже. В контрольную группу вошли пациентки со спорадическим РМЖ (n=107).

**Результаты.** По результатам генетического скрининга в 78 случаях были выявлены повторяющиеся мутации в генах *CHEK2* (n=47), *NBS1* (n=12) и *BLM* (n=19). Для *CHEK2*, *NBS1* и *BLM*-опосредованных опухолей, как и для спорадического рака, были характерны преобладание позитивного статуса экспрессии рецепторов эстрогенов и низкая частота «трижды негативного» экспрессионного фенотипа, тогда как доля опухолей, не экспрессирующих рецепторы прогестерона, была существенно выше среди *CHEK2*-ассоциированных (18/45, 40%) (p=0,003) и *NBS1*-ассоциированных (6/11, 54,5%) (p=0,008) опухолей, чем среди ненаследственных карцином молочной железы (17/104, 16,3%) (точный тест Фишера). Для *CHEK2*-опосредованных карцином, по сравнению со спорадическим РМЖ, был характерен более поздний возраст начала заболевания (57,1 года против 51,9 года соответственно) (p=0,02, t-критерий Стьюдента) и повышенная частота опухолей с распространением на грудную стенку и кожу (T4) (14/46, 30,4% против 6/106, 6,7% соответственно) (p<0,001, точный тест Фишера).

**Заключение.** Поскольку наследственные мутации в генах *CHEK2*, *NBS1* и *BLM* нередко встречаются в российской популяции, большую практическую важность имеет выявление ассоциированных с ними специфических фенотипических особенностей, потенциально пригодных для персонализации терапевтического подхода.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 14-25 00111-П.

### Литературные источники:

[1]. Любченко Л.Н., Батенева Е.И. Медико-генетическое консультирование и ДНК-диагностика при наследственной предрасположенности к раку молочной железы и раку яичников // 2014, М.: ИГ РОНЦ, 75с.

[2]. Соколенко А.П., Иевлева А.Г., Имянитов Е.Н. Что нужно знать о наследственном раке молочной железы и яичников // 2010, СПб.: Эко-Вектор, 48с.

## РАЗРАБОТКА ДРОЖЖЕВОЙ МОДЕЛИ ДЛЯ ФЕНОТИПИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КОНФОРМАЦИОННЫХ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЙ БЕЛКА PrP.

Лашкул В.В.<sup>1</sup>, Качкин Д.В.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9, 199034; <sup>2</sup>Georgia Institute of Technology, USA, Atlanta, GA 30332-2000

[lashkulvv@mail.ru](mailto:lashkulvv@mail.ru)

Целый ряд заболеваний человека и животных, получивших название амилоидозы, возникает из-за «неправильной» укладки и агрегации белков (амилоидов). В настоящее время насчитывается более 50 амилоидозов. К наиболее социально значимым амилоидозам относятся болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, боковой амиотрофический склероз, диабет II типа. В особую группу выделяют прионные заболевания (инфекционные амилоидозы), связанные с агрегацией и передачей между организмами прионного белка PrP. Подавляющее большинство амилоидных заболеваний на сегодняшний день неизлечимо.

Удобным модельным объектом для изучения амилоидов млекопитающих *in vivo* являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, так как формируемые в дрожжах агрегаты в большинстве случаев не токсичны для клеток и сходны по биохимическим характеристикам с агрегатами, выявляемыми у млекопитающих [1], [2]. Однако агрегаты амилоидных белков млекопитающих не имеют собственного фенотипического проявления в дрожжах. В нашей лаборатории разрабатывается дрожжевая модель, позволяющая по фенотипу «рост/отсутствие роста на селективных средах» оценивать амилоидогенный статус белков и проводить масштабный поиск факторов, влияющих на процессы амилоидогенеза. В качестве репортера мы используем С-терминальную последовательность дрожжевого фактора терминации трансляции - Sup35. В штаммах, маркированных нонсенс-мутацией *ade1-14* и несущих 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 рамках данной работы нами разрабатывается дрожжевая модель для фенотипического анализа агрегации приона млекопитающих - PrP.

Благодарности: Данная работа была выполнена при поддержке проекта 15.61.2218.2013 (СПбГУ) и ресурсных центров «ЦКП ХРОМАС» и «РМиКТ» научного парка СПбГУ.

[1] Chandramowliswaran P. et al., Mammalian amyloidogenic proteins promote prion nucleation in yeast. // 2018, J. Biol. Chem. V. 293(9), P. 3436-3450.

[2] Rubel A. et al., Identification of PrP sequences essential for the interaction between the PrP polymers and A $\beta$  peptide in a yeast-based assay. // 2013, Prion, 7(6), P. 469-476.

## ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ СПЕРМАТОЗОИДОВ С ФРАГМЕНТИРОВАННОЙ ДНК СВЯЗЫВАТЬСЯ С БЛЕСТЯЩЕЙ ОБОЛОЧКОЙ ООЦИТА ЧЕЛОВЕКА

Мазилина М.А.<sup>1,2</sup>, Комарова Е.М.<sup>2</sup>, Мекина И.Д.<sup>2</sup>, Гзгзян А.М.<sup>1,2</sup>, Баранов В.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная, 7/9;

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ Акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3.

[mashamazilina@gmail.com](mailto:mashamazilina@gmail.com)

Ооцит млекопитающих окружает гликопротеиновая оболочка - zona pellucida (ZP), которая выступает естественным барьером на пути сперматозоидов к оплодотворению. Гликопротеины ZP определяют видовую специфичность контактирования сперматозоида и яйцеклетки, также блестящая оболочка обеспечивает упорядоченную пространственную организацию клеток раннего эмбриона. Хотя проникновение через ZP является лимитирующим фактором для достижения оплодотворения, это одно из наименее изученных событий гаметного взаимодействия. Важным аспектом для ранних этапов эмбриогенеза является целостность ДНК сперматозоида, однако в литературе отсутствуют данные о способности сперматозоидов человека с фрагментированной ДНК связываться с ZP ооцита и участвовать в дальнейшем эмбриональном развитии.

Был проведен эксперимент по связыванию сперматозоидов с блестящей оболочкой ооцита. Материал был получен от пациентов, проходящих лечение в отделении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Использовались ооциты непригодные для оплодотворения, на стадии GV и MI, для которых было проведено культивирование в специальной среде для созревания в инкубаторе в течение суток. Использованные для эксперимента эякулят донора после криоконсервации и нативный эякулят пациентов были предварительно подготовлены с помощью центрифугирования в градиенте плотности силиконовых частиц и метода флотации, что позволило выделить фракцию наиболее подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов. Было получено 10 ооцитов, для которых проведена диссекция блестящей оболочки на две равные части с помощью микроманипуляционного оборудования и лазерной установки. В каплях среды для оплодотворения к одной половине блестящей оболочки ооцита добавляли исследуемый эякулят, к другой половине - эякулят донора спермы, используемый в качестве контроля. После инкубации в атмосфере 5,4% CO<sub>2</sub> при +37°C была проанализирована способность сперматозоидов связываться с ZP. Во всех случаях сперматозоиды от пациента проявили связывающую способность удовлетворяющую требованиям, которые по данным литературы составляют  $\geq 35\%$  (Dyk, 2000).

Для 249 сперматозоидов, плотно связавшихся с блестящими оболочками ооцита, была проанализирована фрагментация ДНК. Доля клеток с фрагментированной ДНК составила 12,05% (n=30).

Согласно полученным данным, можно сделать вывод о том, что сперматозоиды с фрагментированной ДНК могут эффективно связываться с блестящей оболочкой и, видимо, участвовать в оплодотворении ооцита и дальнейшем эмбриональном развитии.

[1]. Dyk Q.V., Incidence of aneuploid spermatozoa from subfertile men: selected with motility versus hemizona-bound. // 2000, Hum. Reprod., V.15-7, P. 1529-1536.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ 18-75-10046.

## КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ НОВОГО ВАРИАНТА с.516G>C ГЕНА *GJB2*, АССОЦИИРОВАННОГО С ПОТЕРЕЙ СЛУХА У КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОЙ СИБИРИ

Маслова Е.А.<sup>1,2</sup>, Бады-Хоо М.С.<sup>3</sup>, Зыцарь М.В.<sup>1</sup>, Орищенко К.Е.<sup>1</sup>, Посух О.Л.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1; <sup>3</sup>Перинатальный центр Республики Тыва, Россия, Кызыл, ул. Оюна-Курседи, 159А  
[maslova@bionet.nsc.ru](mailto:maslova@bionet.nsc.ru)

Оценка функциональной значимости впервые выявленных вариантов последовательности генов, вовлеченных в патогенез моногенных заболеваний, является важной фундаментальной задачей. Наиболее частой причиной потери слуха в популяциях человека являются мутации в гене *GJB2*, кодирующем трансмембранный белок коннексин 26 (Cx26), молекулы которого образуют межклеточные каналы, необходимые для транспорта ионов. При изменениях структуры Cx26, вызванных мутациями гена *GJB2*, нарушается нормальная работа каналов и не происходит восстановления ионного гомеостаза эндолимфы, что приводит к необратимой потере слуха.

В данной работе приводятся результаты комплексной оценки патогенетической значимости нового несинонимичного варианта с.516G>C (*GJB2*), приводящего к замене триптофана на цистеин в консервативной аминокислотной позиции 172 (p.W172C) белка Cx26, который был обнаружен с высокой частотой у глухих тувинских больных (Республика Тыва). При анализе расширенных родословных глухих пациентов установлена сегрегация гомозиготного варианта с.516G>C (p.W172C) с патологией слуха, а его частота в выборке больных статистически значимо превышала частоту в контроле (0.139 и 0.019, соответственно). В мировых базах геномных данных человека (ClinVar, dbSNP138, ESP, ExAC, 1000 Genomes Project) вариант с.516G>C не обнаружен. *In silico* анализ (PolyPhen2, SIFT, MutationTaster и др.) показал вероятный повреждающий эффект p.W172C на структуру белка Cx26. Для исследования функциональной значимости варианта p.W172C в условиях *ex vivo* собраны генетические конструкции с элементами системы CRISPR/Cas9, с помощью которых получена клеточная линия HeLa с нокаутом по гену *GJB2*. Для оценки клеточной локализации мутантных форм белка Cx26 методами иммуноцитохимического окрашивания и изучения проницаемости каналов (с применением красителя PI) созданы генетические конструкции, несущие вариант с.516G>C (p.W172C) и варианты гена *GJB2* с уже известным повреждающим эффектом - с.35delG (p.Gly12Valfs), с.235delC (p.Leu79Cysfs), с.224G>A (p.R75Q), с.313\_326del14 (p.Lys105Glyfs), а также «дикий тип», используемые в качестве контроля при сравнительном анализе.

Совокупность полученных данных свидетельствует о повреждающем эффекте варианта с.516G>C (p.W172C), выражающемся в нарушении функционирования каналов, образованных мутантными формами белка Cx26.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН №0324-2018-0016 и грантов РФФИ: 18-34-00166\_мол-а и 17-29-06016\_офи-м.

## ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИЙ ЗЕБРАДАНИО, НОКАУТНЫХ ПО ГЕНАМ ТРАНСПОРТЁРОВ СЕРОТОНИНА (SLC6A4A И SLC6A4B) С ПОМОЩЬЮ НАПРАВЛЕННОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ СИСТЕМАМИ CRISPR/SpCas9 И CRISPR/LbCas12a

Мешалкина Д.А.<sup>1,2</sup>, Казалов М. А.<sup>3</sup>, Кисель Э. В.<sup>1</sup>, Фёдорова Я. В.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский Государственный Университет, Россия, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., д. 7-9; <sup>2</sup>Институт Эволюционной Физиологии и Биохимии им. Сеченова, Россия, Санкт-Петербург, 194223, пр. Тореза, 44; <sup>3</sup> Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого (СПбПУ), 195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, 29; <sup>4</sup> Сколковский Институт Науки и Технологии, 121205, Москва, ул. Нобеля, д. 3.

[postoronniW@yandex.ru](mailto:postoronniW@yandex.ru)

В последнее десятилетие рыбы зебраданио (*Danio rerio*) набирают популярность как модельный объект для исследования нейropsychических заболеваний, и существует довольно обширная литература, описывающая действие на них фармакологических препаратов, направленных на лечение этих заболеваний. Но, несмотря на высокую частоту депрессии (10-20%) и важность разработки новых средств её лечения, пока не создано высокопродуктивной её модели на зебраданио. Такая модель, основанная на зебраданио, генетически предрасположенных к депрессоподобным симптомам, позволит сократить протоколы индуцирования стрессоподобного поведения и ускорить скрининг новых препаратов, особенно тех, которые способны бороться с лекарственно-устойчивыми случаями.

Для создания таких рыб мы применили систему редактирования генома CRISPR/Cas и нокаутировали с её помощью два гена транспортёра серотонина у зебраданио (*slc6a4a* и *slc6a4b*). В данной работе мы сравнили эффективности двух вариантов CRISPR/Cas в формате рибонуклеопротеидных комплексов: SpCas9 в комплексе с sgRNA и LbCas12a в комплексе с crRNA. Для обоих вариантов были сначала биоинформатически (с помощью сервиса Benchling), а затем и экспериментально подобраны направляющие РНК, обладающие высокой эффективностью редактирования. Рибонуклеопротеидные комплексы LbCas12a с crRNA индуцировали появление в целевом гене более протяжённых делеций (10-35 пар оснований), в то время как комплексы SpCas9 с sgRNA индуцировали мутации протяжённостью до 7 пар оснований. При этом, особи, отредактированные комплексами LbCas12a, являлись мозаичными по многим типам мутаций одновременно, что затрудняло предсказание того, какие из полученных мутаций будут передаваться потомкам. Группы рыб с наибольшей эффективностью получения и длиной делеций были выращены до взрослого состояния (по одной группе для каждой мишени) и скрещены с рыбами дикого типа. Было установлено, что мутации передаются потомству и среди потомства были отобраны особи с мутациями, наиболее удобными для дальнейшего генотипирования посредством мультиплексной ПЦР: для *slc6a4a* - делеция 14 пар оснований, а для *slc6a4b* - делеция 20 пар оснований. Такие делеции нарушают рамку считывания гена, приводя к преждевременному стоп-кодону. Данные особи могут считаться основателями линий и будут в дальнейшем размножены для получения групп с гетеро- и гомозиготными нокаутами по одному или обоим транспортёрам, с которыми и будут проводиться дальнейшие эксперименты.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ мол\_а 18-315-00375, а также ресурсного центра Молекулярной и Клеточной Биологии СПбГУ.

## АНАЛИЗ РОЛИ ВАРИАНТОВ С.589DELС/STX10 И С.G3463Т/NBEAL1 В ПАТОГЕНЕЗЕ РАКА ЯИЧНИКОВ

Мингажева Э.Т.<sup>1</sup>, Валова Я.В.<sup>1,2</sup>, Прокофьева Д.С.<sup>1</sup>, Фаисханова Р.Р.<sup>3</sup>, Сакаева Д.Д.<sup>3</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,4</sup>

*1* Башкирский государственный университет, кафедра генетики и фундаментальной медицины, Уфа, Россия

*2* ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», Уфа, Россия

*3* ГБУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа, Россия

*4* Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

*Elvira.F91@mail.ru*

Рак яичников (РЯ) является одной из наиболее распространенных и агрессивных опухолей женской репродуктивной системы. Одним из основных факторов риска данной патологии выступает генетическая предрасположенность. Привлекательными методами для поиска новых генов, вовлеченных в патогенез онкозаболеваний, выступают технологии секвенирования нового поколения (NGS). Одной из широко применяемых технологий NGS является экзомное секвенирование.

В результате ранее проведенного экзомного секвенирования герминальных образцов ДНК у одной пациентки нами впервые была выявлена делеция с.589delC (*p.L197fs*) в гене *STX10* и известная однонуклеотидная замена с.G3463Т (*p.E1155X*) в гене *NBEAL1*. Было установлено, что оба варианта являются функционально значимыми и патогенными.

Для установления частоты и роли выявленных изменений в патогенезе РЯ нами был проведен скрининг вариантов с.589delC/*STX10* и с.G3463Т/*NBEAL1* на расширенной выборке больных РЯ (n=261) и здоровых индивидов (n=322). Поиск изменений нуклеотидной последовательности был выполнен с помощью анализа кривых плавления с высокой разрешающей способностью (HRM).

Ген *STX10* считается одним из онкогенов. Белковый продукт данного гена взаимодействует с протеинами UBC и RAD21, которые являются важными участниками репарации ДНК. В результате секвенирования экзома нами впервые была идентифицирована делеция с.589delC, локализованная в 7 экзоне гена *STX10* и приводящая к сдвигу рамки считывания. В результате нашего исследования данный вариант в гетерозиготном состоянии был выявлен у 5 (2%) больных РЯ и 8 (2.5%) здоровых индивидов.

В ряде исследований было показано участие гена *NBEAL1* в патогенезе РЯ серозного гистологического типа. Вариант с.G3463Т расположен в 24 экзоне гена *NBEAL1* и ведет к образованию преждевременного стоп-кодона и, как следствие, синтезу укороченного белка. В проведенном нами исследовании замена с.G3463Т была идентифицирована у одной пациентки (0,4%) в гетерозиготном состоянии во время экзомного секвенирования. Скрининг данного варианта на расширенной выборке больных РЯ и здоровых доноров не выявил других носительниц данного варианта.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о низкой частоте встречаемости вариантов с.589delC/*STX10* и с.G3463Т/*NBEAL1* среди больных РЯ и здоровых индивидов из Республики Башкортостан.

*Исследование поддержано программой развития биоресурсных коллекций ФАНО.*

## ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С СИНУКЛЕИНОПАТИЯМИ

Николаев М.А.<sup>1,2</sup>, Усенко Т.С.<sup>1,2</sup>, Безрукова А.И.<sup>1</sup>, Кулабухова Д.Г.<sup>1</sup>, Князева М.Ю.<sup>1</sup>, Бельцева Ю.А.<sup>3</sup>, Грачева Е.В.<sup>4</sup>, Андоскин П.А.<sup>1</sup>, Емельянов А.К.<sup>1,2</sup>, Милюхина И.В.<sup>4</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ПИЯФ им Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский Институт», Россия, Гатчина, Орлова роща д1, 188300;

<sup>2</sup> ПСПбГМУ им И.П. Павлова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6/8, 197022;

<sup>3</sup> ФГБУ "НМИЦ ПН им. В.М. Бехтерева" Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия, ул. Бехтерева д3, 192019;

<sup>4</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия, малый проспект д13, 197110;

[Nikolaev\\_MA@npi.nrcki.ru](mailto:Nikolaev_MA@npi.nrcki.ru)

**Введение.** Синуклеинопатии – группа нейродегенеративных заболеваний, при которых гибель нейронов мозга обусловлена агрегацией белка альфа-синуклеина (SNCA). Обсуждается, что процесс воспаления может быть вовлечен в развитие когнитивного дефицита как при деменции с тельцами Леви (ДТЛ), так и болезни Паркинсона (БП). Мы предполагаем, что повышенная экспрессия гена альфа-синуклеина может быть индуктором синтеза провоспалительных цитокинов и ассоциирована с развитием когнитивных дисфункций при синуклеинопатиях.

**Цель** данного исследования заключалась в оценке уровня мРНК гена *SNCA* в CD45+ клетках периферической крови и цитокинового профиля плазмы крови у пациентов с ДТЛ, БП с деменцией (БПД).

**Материалы и методы.** В исследование вошли пациенты с БПД (n=15), ДТЛ (n=22), БП с отсутствием деменции (БП) (n=60) и контрольная группа (n=58). Уровень мРНК гена *SNCA* в CD45+ клетках периферической крови методом количественной ПЦР в режиме реального времени. Уровень цитокинов (ИФН-гамма, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-21, ИЛ-23, ИЛ-1бета, ФНО-альфа, МХП-1) анализировали методом мультиплексного анализа с использованием аналитической системы Luminex MagPix (Luminex Corporation, USA). Статистическая обработка данных проводилась с использованием U-критерия Манна-Уитни и корреляционным анализом по методу Спирмена.

**Результаты.** Уровень мРНК гена *SNCA* в CD45+ клетках был повышен в группе пациентов с БПД и ДТЛ относительно контроля (p=0.01, p=0.0003, соответственно) и пациентов с БП (p=0.02, p=0.001, соответственно). Методом мультиплексного анализа показана статистически значимая повышенная концентрация ФНО-альфа в плазме крови пациентов с БПД и ДТЛ по сравнению с группой пациентов с БП (p=0.0249, p=0.033, соответственно), а также ИФН-гамма и ИЛ-6 в группе пациентов с ДТЛ относительно пациентов с БП (p=0.0386, p=0.0328, соответственно). Уровень МХП-1 в плазме крови пациентов с ДТЛ, БПД и БП статистически значимо снижен по сравнению с контролем (p<0.001, p<0.001, p=0.003, соответственно). Уровень мРНК гена *SNCA* в CD45+ клетках в положительно коррелировал с концентрацией хемокина МХП-1 и отрицательно с уровнем провоспалительного цитокина ИЛ-12 в плазме крови пациентов с синуклеинопатиями (r=0.33, p=0.04; r=-0.43, p=0.01, соответственно)

**Заключение.** Проведенное нами исследование показало, что развитие деменции при синуклеинопатиях (ДТЛ, БПД) ассоциировано с повышенной экспрессией гена *SNCA* в CD45+ клетках и концентрацией провоспалительных цитокинов плазмы крови.

Исследование поддержано грантом РФФИ N 18-315-00387 мол-а

## ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В ИНВАЗИЮ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Новиков Н.М.<sup>1</sup>, Денисов Е.В.<sup>1</sup>, Геращенко Т.С.<sup>1</sup>, Киселёв А.М.<sup>2</sup>, Крахмаль Н.В.<sup>1</sup>,  
Готро А.<sup>3</sup>, Чердынцева Н.В.<sup>1</sup>, Перельмутер В.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Томский НИМЦ РАН, Россия, Томск

<sup>2</sup>ФГБУ "НИИЦ им. В.А. Алмазова" Минздрава России, Россия, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Ecole Polytechnique, Париж, Франция

[d\\_evgeniy@oncology.tomsk.ru](mailto:d_evgeniy@oncology.tomsk.ru)

Метастазирование является основной причиной смертности от онкологических заболеваний, в частности рака молочной железы (РМЖ). Понимание молекулярных основ опухолевой инвазии, являющейся первой ступенью на пути метастазирования, является актуальной задачей современной онкологии. Ранее мы предположили, что внутриопухолевая морфологическая гетерогенность РМЖ может использоваться как модель для изучения механизмов инвазивного роста [1]. Целью данного исследования был поиск генетических нарушений, ассоциированных с коллективным и индивидуальным вариантом инвазивного роста опухолей молочной железы. В исследовании были использованы образцы опухолевой и нормальной ткани молочной железы, полученные в ходе хирургического вмешательства от пациентов с РМЖ (n=10). Вариант инвазивного компонента (коллективный или индивидуальный) определяли с помощью морфологического анализа. Образцы ДНК, выделенные из опухолевой и нормальной ткани, использовали для подготовки экзомных библиотек (SureSelect XT HS, Agilent). Секвенирование проводили на платформе NextSeq500 в режиме PE75 (Illumina). Обработка данных проводилась с помощью пайплайна GATK, генетические варианты, обнаруженные в образцах опухолевой ткани относительно нормальной ткани молочной железы, аннотировали с помощью инструмента ANNOVAR. В результате исследования не было показано значительных различий в мутационном ландшафте опухолей с коллективной и индивидуальной инвазией. Различий не было обнаружено как в общей мутационной нагрузке, так и на уровне частоты и типов нарушений в конкретных группах генов, в частности генов-драйверов канцерогенеза. Тем не менее, исследуемые типы опухолей молочной железы различались в спектре нарушений генов, вовлеченных по данным литературы в регуляцию клеточной подвижности и миграции. Так, в опухолях с коллективной инвазией чаще детектировались изменения в генах, связанных с активацией ГТФаз семейства Rho. Напротив, опухоли с индивидуальной миграцией чаще демонстрировали наличие нарушений в генах, белки которых вовлечены в инактивацию Rho ГТФаз. Интересно, что в отличие от опухолей с коллективной инвазией случаи с индивидуальным вариантом инвазивного роста чаще характеризовались функционально значимыми нарушениями в генах клеточной миграции. Таким образом, опухоли молочной железы с коллективной и индивидуальной инвазией, несмотря на отсутствие существенных различий в мутационном ландшафте, отличаются друг от друга спектром нарушений в генах клеточной миграции.

[1]. Denisov, E.V., Skryabin, N.A., Gerashchenko, T.S. et al. (2017). Clinically relevant morphological structures in breast cancer represent transcriptionally distinct tumor cell populations with varied degrees of epithelial-mesenchymal transition and CD44+CD24- stemness. *Oncotarget*, no. 8, P. 61163–61180.

**Благодарности:** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и НЦНИ в рамках научного проекта № 18-515-16002.

## ГЕНЫ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ И ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННАЯ ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИЯ У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

Османова Д.З.<sup>1,2</sup>, Тигунцев В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ психического здоровья Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Россия, г. Томск, ул. Алеутская 4

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36

[osmanovadiana@mail.ru](mailto:osmanovadiana@mail.ru)

Более 40% больных шизофренией перестают принимать нейролептики из-за низкой эффективности, толерантности к терапии или развития серьезных побочных эффектов. Гиперпролактинемия – один из наиболее частых побочных эффектов при назначении антипсихотической терапии, который значительно снижает качество жизни пациентов.

**Цель:** Изучение полиморфных вариантов генов дофаминовых рецепторов (*DRD1*, *DRD2*, *DRD3* и *DRD4*) в качестве возможных генов-кандидатов лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией.

**Методы:** Выборка для исследования составила 446 пациента Сибирского региона (224 женщины и 222 мужчины), средний возраст  $42,1 \pm 1,4$ . При проведении исследования были соблюдены принципы информированного согласия Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации, исследование одобрено локальным этическим комитетом. Оценка уровня пролактина в сыворотке крови проводилась иммуноферментным методом с использованием набора реагентов PRL Test System (США). Было прогенотипировано 15 полиморфных вариантов генов дофаминовых рецепторов *DRD1* (*rs4532*, *rs936461*), *DRD2* (*rs134655*, *rs6277*, *rs2283265*, *rs179997*, *rs2734849*, *rs1801028*), *DRD3* (*rs963468*, *rs9817063*, *rs167771*, *rs1587756*, *rs324035*) и *DRD4* (*rs3758653*, *rs11246226*).

**Результаты:** Пациенты были разделены на две группы: с гиперпролактинемией и без гиперпролактинемии. Выявлена статистически значимая ассоциация полиморфного варианта *rs936461* гена *DRD1* с развитием гиперпролактинемии по аллелям ( $\chi^2=4.43$ ;  $p=0.04$ ). Аллель G статистически значимо чаще встречается у пациентов с нормальным уровнем пролактина и обладает протективным эффектом ( $\chi^2=4.43$ ;  $p=0.04$ ) (OR 0.74; 95% CI: 0.55–0.98), генотип GG также встречается чаще у пациентов без гиперпролактинемии (50% против 39.8%) (OR 0.66; 95% CI: 0.45–0.97). Статистически значимые результаты были получены для полиморфного варианта *rs6277* гена *DRD2* ( $\chi^2=3.69$ ;  $p=0.05$ ). Аллель T полиморфного варианта *rs6277* чаще встречается у пациентов с повышенным уровнем пролактина (49.8% против 43.3%) и является предрасполагающим в отношении развития нейролептической гиперпролактинемии ( $\chi^2=3.69$ ;  $p=0.05$ ) (OR 1.30; 95% CI: 0.99 – 1.69).

**Выводы:** Дальнейшее изучение роли полиморфных вариантов генов дофаминаргической системы в патогенезе развития лекарственно-индуцированной гиперпролактинемии у пациентов с шизофренией позволит оптимизировать генотип-специфический подход к оценке риска развития побочных эффектов фармакотерапии и разработать подходы к персонализированной терапии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29-06035 «Новые подходы к фармакогенетике антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией»(2017-2019)

## ВЛИЯНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МУТАЦИИ LETHALYELLOW В ГЕНЕ AGOUTI И МУТАЦИИ A53T В ГЕНЕ SNCA ЧЕЛОВЕКА У ТРАНСГЕННЫХ МЫШЕЙ НА МОЗГ И ПОВЕДЕНИЕ

Плюснина А.В.<sup>1</sup>, Хоцкин Н.В.<sup>1</sup>, Куликова Е.А.<sup>1</sup>, Баженова Е.Ю.<sup>1</sup>, Куликов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090;

[plusninaav@bionet.nsc.ru](mailto:plusninaav@bionet.nsc.ru)

Болезнь Паркинсона (БП) - социально значимое и второе по распространенности нейродегенеративное заболевание после болезни Альцгеймера. Риск развития БП обусловлен многочисленными генетическими и средовыми факторами. Первой идентифицированной мутацией у человека ассоциированной с БП является точечная мутация A53T в гене SNCA, обладающая повышенной токсичностью (enhanced neurotoxicity) и приводящая к сверхэкспрессии белка альфа-синуклеина. Эта мутация была перенесена в геном мыши и трансгенные мыши гемизиготные по данной мутации являются моделью БП [1]. Также известно, что наследственные нарушения метаболизма, такие как ожирение, диабет I и II типа увеличивают риск БП [2]. Мутация *lethal yellow* в гене *agouti* ( $A^Y$ ), вызывающая эктопическую экспрессию белка агуты во многих тканях, включая мозг, приводит к развитию ожирения и диабета 2 типа [3]. Целью данного исследования было впервые изучить влияние взаимодействия мутаций A53T в гене SNCA и  $A^Y$  на мозг и поведение мышей.

Все эксперименты проводились на взрослых (10-12 недель) особях полученных при скрещивании самок  $A^Y/a$  с самцами SNCA A53T, со следующими генотипами:  $A^Y/a$  wt,  $a/a$  A53T,  $A^Y/a$  A53T,  $a/a$  wt. Обнаружено взаимодействие мутаций  $A^Y$  и A53T на вес и жировую массу. Мутация A53T подавляла вызванное мутацией  $A^Y$  увеличение веса и жировой массы, эти показатели у мышей  $A^Y/a$  A53T практически не отличались от животных дикого типа. В тесте «открытое поле» было выявлено достоверное увеличение уровня дефекации у мышей с мутацией A53T, что свидетельствует о повышенной тревожности у мышей. Обнаружено влияние взаимодействия мутаций  $A^Y$  и A53T на время неподвижности в тесте «принудительное плавание». Мутация  $A^Y$  резко увеличивала время замирания, тогда как мутация A53T подавляла этот эффект мутации  $A^Y$  у животных  $A^Y/a$  A53T. Также обнаружено, что наличие мутации в гене SNCA увеличивает подвижность в тесте «принудительное плавание» у  $A^Y/a$  A53T. Это свидетельствует об антидепрессантном эффекте мутации A53T. С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии обнаружено влияние мутации  $A^Y$  на уровень норадреналина в стриатуме и гиппокампе, а также влияние мутаций A53T и  $A^Y$  на метаболизм дофамина в среднем мозге.

Мы впервые обнаружили влияние взаимодействия мутаций  $A^Y$  и A53T на выраженность ожирения и депрессивно-подобного поведения у мышей  $A^Y/a$  A53T. Эти мутации оказывают антагонистическое действие на данные признаки.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 17-15-01032.

### Список литературы:

- [1] Lee M.K., Human  $\alpha$ -synuclein-harboring familial Parkinson's disease-linked Ala-53→ Thr mutation causes neurodegenerative disease with  $\alpha$ -synuclein aggregation in transgenic mice. // 2002, Proceedings of the National Academy of Science, V.99, P.8968-8973.
- [2] Yue X., Risk of Parkinson disease in diabetes mellitus: an updated meta-analysis of population-based cohort studies. // 2016, Medicine, V.95, P.3549.
- [3] Bazhan N.M., Exaggerated anorexigenic response to restraint stress in  $A^Y$  mice is associated with elevated CRFR2 mRNA expression in the hypothalamus. // 2013, Physiology & behavior. N.120. P.19-25.

## ПОЛНОГЕНОМНЫЕ СКОРЫ КАК НОВЫЙ ИНСТРУМЕНТ В ОЦЕНКЕ РИСКОВ МУЛЬТИФАКТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Ракитко А.С.<sup>1,2</sup>, Попов Я.В.<sup>1</sup>, Низамутдинов И.И.<sup>1</sup>, Ильинский В.В.<sup>1,3,4,5</sup>

<sup>1</sup> ООО «Генотек»

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119992, Москва, Ленинские горы

<sup>3</sup> Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН, Москва

<sup>4</sup> Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича, Москва

<sup>5</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва

[rakitko@gmail.com](mailto:rakitko@gmail.com)

**Введение.** Доступность полногеномного генотипирования с помощью микрочипов привела к существенному увеличению размеров изучаемых коллекций. Технологии мета-анализов проведенных ранее GWAS-исследований позволяют искать генетические ассоциации на выборках из более 1 миллиона образцов. Результатом таких работ могут выступать полигенные скоры, основанные на оценке суммарного вклада сотен тысяч генетических маркеров.

**Цель.** На примере коронарной недостаточности оценить предсказательную силу предложенных ранее полногеномных скоров. Построить нелинейные алгоритмы бинарной классификации с учетом генетических факторов и биохимических показателей.

**Методы.** В качестве тестовой выборки использовалась подвыборка из PennCath study [1]. В выборку входило 1401 человек, из которых 933 больных (коронарная недостаточность) и 468 здоровых. Помимо генетической информации для образцов указывались пол, возраст, уровни триглицеридов, ЛПНП и ЛПВП. В качестве предсказательной модели использовался полигенный рискованный скор, основанный на анализе 6 630 150 SNP [2]. Импыютирование тестовой выборки производилось с помощью программы BEAGLE 5.0 [3]. В качестве референсной панели для импыютирования использовалась панель HRC. Для контроля качества импыютирования применялась пост-фильтрация по  $MAF > 1\%$  и  $DR2 > 0.7$ . С использованием 10-кратной кроссвалидации были протестированы модели логистической регрессии, случайных лесов и градиентного бустинга для бинарной классификации с учетом генетических и биохимических факторов риска.

**Результаты.** Для полигенного скор на тестовой выборке было получено значение AUC равное 0.783 (95% CI: 0.758-0.808), что означает предсказательную состоятельность используемого полигенного скор. Наибольшая точность бинарной классификации при добавлении в качестве предикторов пола и биохимических показателей достигалась в модели градиентного бустинга (ACC = 0.759; sd = 0.03). С помощью модели случайных лесов было показано, что вклад полигенного скор почти в два раза превосходит вклад уровня триглицеридов.

**Заключение.** На примере коронарной недостаточности мы продемонстрировали, что полногеномные скоры могут существенно повышать точность предсказания возникновения мультифакторных заболеваний. Учет негенетических факторов с помощью нелинейных моделей также улучшает качество классификации на группы риска. Валидирование существующих полногеномных скоров и разработка новых должны стать следующим шагом в развитии моделей предсказания мультифакторных рисков.

## ПРЕПАРАТ ДВУЦЕПОЧЕЧНОЙ РНК ИЗ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* КАК НОВОЕ РАДИОПРОТЕКТОРНОЕ СРЕДСТВО

Риттер Г.С.<sup>1,2,#</sup>, Николин В.П.<sup>1,#</sup>, Попова Н.А.<sup>1,2</sup>, Кисаретова П.Э.<sup>1,2</sup>, Долгова Е.В.<sup>1</sup>, Проскурина А.С.<sup>1</sup>, Поттер Е.А.<sup>1</sup>, Кирикович С.С.<sup>1</sup>, Байбородин С.И.<sup>1</sup>, Таранов О.С.<sup>3</sup>, Ефремов Я.Р.<sup>1,2</sup>, Колчанов Н.А.<sup>1</sup>, Богачев С.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск, пр.акад.Лаврентьева 10; <sup>2</sup> ФГАОУВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Россия, Новосибирск, ул. Пирогова 1; <sup>3</sup> ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Россия, Новосибирская область, р. п. Кольцово

# равноценный вклад в исследование

[labmolbiol@mail.ru](mailto:labmolbiol@mail.ru)

В работе представлен препарат с новым механизмом радиозащитного действия, связанным с нахождением экстраклеточных фрагментов двуцепочечной РНК во внутренних компартментах стволовых гемопоэтических клеток и их участием в процессе репарации двуцепочечных разрывов, индуцированных  $\gamma$ -радиацией [1, 2]. В предварительных экспериментах, выполненных на мышах линии СВА, было установлено, что коммерчески доступный препарат дрожжевой РНК обладает 100% радиозащитным действием при облучении животных летальной дозой в 9.4 Гр. Также было обнаружено, что препарат дрожжевой РНК обладает пролонгированным радиопротекторным действием. Биологические тесты показали, что при облучении, проводимом через 1 час и на 4 сутки после введения препарата РНК, к 70-ым суткам наблюдения выживает 100%, а при облучении на 8 и 12 сутки до 60% животных. В ходе аналитических исследований препарата суммарной РНК дрожжей обнаружилось, что препарат представляет собой смесь одноцепочечной и двуцепочечной РНК. Как оказалось, радиопротекторными свойствами обладает только двуцепочечная РНК. При этом количество вводимого препарата, необходимое для радиопротекторного действия, сокращалось более чем в 30 раз. Цитологическое исследование, с использованием антител к мембранному белку CD34 и меченого флуорохромом двуцепочечного РНК-зонда, определили присутствие двуцепочечной РНК в клетках костного мозга. Количество клеток, захвативших РНК-зонд, оценивается в 0.01-0.025% от общего числа клеток костного мозга, т.е. – порядка 5000 клеток. Предполагается, что радиозащитное действие препарата двуцепочечной РНК связано с корректным восстановлением поврежденного облучением хроматина при участии интернализированной двуцепочечной РНК. Сохранившие жизнеспособность стволовые гемопоэтические клетки мигрируют на периферию и достигают селезенки, где активно пролиферируют. Вновь образовавшаяся клеточная популяция образует новую кроветворную и иммунную системы, разрушенные в результате облучения.

[1]. Dolgova E.V., Efremov YR., Orishchenko K.E., *et al.* Delivery and processing of exogenous double-stranded DNA in mouse CD34+ hematopoietic progenitor cells and their cell cycle changes upon combined treatment with cyclophosphamide and double-stranded DNA // *Gene*, 2013, V. 528, N 2, P. 74-83.

[2]. Dolgova E.V., Potter E.A., Proskurina A.S., *et al.* Properties of internalization factors contributing to the uptake of extracellular DNA into tumor-initiating stem cells of mouse Krebs-2 cell line // *Stem cell research & therapy*, 2016, V. 7, N 1, P. 76.

**Благодарности:** Исследование поддержано грантом РФФИ № 18-34-00205.

## АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В МЕТАБОЛИЗМЕ БЕТА2-АГОНИСТОВ, С РАЗВИТИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Савельева О. Н.<sup>1,2</sup>, Карунас А. С.<sup>1,2</sup>, Федорова Ю. Ю.<sup>1</sup>, Гималова Г. Ф.<sup>1</sup>, Мурзина Р. Р.<sup>3</sup>,  
Гатиятуллин Р. Ф.<sup>3</sup>, Эткина Э. И.<sup>3</sup>, Мухтарова Л. А.<sup>3</sup>, Загидуллин Ш. З.<sup>3</sup>,  
Хуснутдинова Э. К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики

УФИЦ РАН, Россия, г. Уфа, ул. Проспект Октября, 71;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди,  
32;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ России,

г. Уфа, ул. Ленина, 3;

[olyasavelie@yandex.ru](mailto:olyasavelie@yandex.ru)

Бронхиальная астма (БА) представляет собой гетерогенное заболевание, которое, как правило, характеризуется хроническим воспалением дыхательных путей. Бета2-агонисты являются наиболее часто используемыми бронходилататорами для лечения БА. Установлено, что до 50-60% различий в чувствительности к препаратам у пациентов с БА обусловлено генетической вариабельностью. Целью данной работы явилось изучение ассоциации полиморфных вариантов генов, участвующих в метаболизме бета2-агонистов (*ADRB2*, *ARG1*, *ARG2*, *ADCY9*, *THRB*, *CRHR2*, *SPATS2L*, *SLC7A2*, *SLC22A15*), с развитием БА у жителей Республики Башкортостан (РБ). Материалом для исследования послужили образцы ДНК 350 больных БА и 287 здоровых индивидов русской, татарской и башкирской этнической принадлежности. Генотипирование полиморфных вариантов выполнено методом ПЦР в реальном времени. Проведен анализ ассоциации полиморфных вариантов исследованных генов с развитием БА, тяжестью течения и эффективностью лечения заболевания с учетом данных функциональных методов исследования и типа применяемой терапии. Выявлена ассоциация генотипа rs892940 TC гена *THRB*, аллеля rs2190242 C гена *CRHR2*, аллеля rs295137 T и генотипа rs295137 TT гена *SPATS2L* с развитием БА у русских. У татар развитие БА ассоциировано с аллелем rs2781667 C гена *ARG1*, у башкир - с генотипом rs2230739 CC гена *ADCY9*. Обнаружена ассоциация аллеля rs17249437 T и генотипа rs17249437 TT гена *ARG2* со средне-тяжелой формой БА. Выявлена ассоциация генотипа rs2230739 TT гена *ADCY9*, аллеля rs295137 T и генотипа rs295137 TT гена *SPATS2L* с частично контролируемым течением БА. Показана ассоциация аллеля rs17249437 T и генотипа rs17249437 TT гена *ARG2* с частотой использования пациентами бета2-агонистов. У больных БА с генотипом rs7140310 AA гена *ARG2* установлены более низкие значения показателей жизненной емкости легких (ЖЕЛ) по сравнению с носителями генотипа rs7140310 AC. У русских с БА обнаружена ассоциация аллеля rs1042713 A гена *ADRB2* с умеренным снижением объема форсированного выдоха за 1 сек (ОФВ1). У русских пациентов с генотипами rs2781659 AC и rs2781659 CC гена *ARG1* отмечены более низкие значения ЖЕЛ по сравнению с носителями генотипа rs2781659 AA. Таким образом, показано, что полиморфные варианты генов *ADRB2*, *ARG1*, *ARG2*, *ADCY9*, *THRB*, *CRHR2*, *SPATS2L* играют роль в развитии, течении и эффективности терапии БА. Данная работа была выполнена с использованием «Коллекции биоматериалов человека ИБГ УФИЦ РАН» при частичной финансовой поддержке РФФИ № 17-04-02195.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ СПЛАЙСИНГА В ГЕНЕ *ABCA4* У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ШТАРГАРДТА ПАЛОЧКО-КОЛБОЧКОВОЙ ДИСТРОФИЕЙ

Спарбер П.А.<sup>1</sup>, Филатова А.Ю.<sup>1</sup> Аношкин К.И.<sup>1</sup>, Стрельников В.В.<sup>1,2</sup>, Шеремет Н.Л.<sup>3</sup>, Грушкэ И.Г.<sup>3</sup>, Жоржоладзе Н.В.<sup>3</sup>, Скоблов М.Ю.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Медико-генетический научный центр, Российская федерация, Москва, улица Москворечье, 1; <sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Российская федерация, Москва, улица Островитянова, 1; <sup>3</sup> научно-исследовательский институт глазных болезней, Российская федерация, Москва, ул. Россолимо, 11 <sup>4</sup> Дальневосточный федеральный университет, Российская федерация, Владивосток, улица Суханова, 8;

[psparber93@gmail.com](mailto:psparber93@gmail.com)

Патогенные варианты в гене *ABCA4* ассоциированы с аутосомно-рецессивной болезнью Штаргардта, абитрофией сетчатки типа Франческетти, пигментным ретинитом и палочко-колбочковой дистрофией. Так же гетерозиготные патогенные варианты были выявлены у больных с возрастной макулодистрофией. Такая аллельная гетерогенность обусловлена различными типами патогенных вариантов в гене *ABCA4*, приводящая к различной остаточной активности белка, специфично экспрессирующегося в сетчатке глаза. Патогенные варианты, нарушающие сплайсинг играют значительную роль в этиологии *ABCA4*-зависимых заболеваний и составляют около 20% от всех описанных патогенных вариантов в этом гене. Тем не менее, без проведения функциональных исследований зачастую невозможно предсказать патогенный эффект варианта на белковом уровне, что крайне необходимо для оценки прогноза тяжести заболевания и составления гено-фенотипических корреляций. Более того, определение молекулярного механизма нарушения сплайсинга крайне необходимо для разработки таргетной терапии коррекции сплайсинга. В лаборатории эпигенетики МГНЦ было проведено полное секвенирование гена *ABCA4* у пациентов с подозрением на болезнь Штаргардта. Были выявлены четыре интронных варианта с.4540-1G>A, с.4540-2A>G, с.4634+1del и с.4848+11\_4848+12insTA. Среди них только вариант с.4540-2A>G был ранее описан как патогенный, однако без проведения функциональных исследований. Все четыре варианта находились в компаунд-гетерозиготном положении с ранее описанным патогенным вариантом. Нами был проведен функциональный анализ с использованием плазмидных миниген векторов. Функциональный анализ показал, что все выявленные интронные варианты приводят к нарушению сплайсинга. Варианты с.4540-1G>A, с.4540-2A>G и с.4634+1del приводили к укорочению или полному пропуску 31 экзона, что приводило к сбивке рамки считывания и формированию преждевременного стоп-кодона. Формирование преждевременного стоп-кодона активируют нонсенс-опосредованную деградацию мРНК (NMD). Таким образом, данные варианты являются нуль-аллелями с полным отсутствием с них функционального белка. Вариант с.4848+11\_4848+12insTA также нарушал сплайсинг и приводил к пропуску 34 экзона, результатом чего являлась делеция 25 аминокислот. В литературе описан как патогенный вариант затрагивающий тот же донорный сайт сплайсинга, так же делеция затрагивала функционально значимый домен белка *ABCA4* на основании чего был сделан вывод о патогенности варианта с.4848+11\_4848+12insTA.

## АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

Староватых Ю.С.<sup>1</sup>, Руденок М.М.<sup>1</sup>, Алиева А.Х.<sup>1</sup>, Карабанов А.В.<sup>2</sup>, Иллариошкин С.Н.<sup>2</sup>, Доронина К.С.<sup>3</sup>, Доронина О.Б.<sup>3</sup>, Росинская А.В.<sup>4</sup>, Сломинский П.А.<sup>1</sup>, Шадрина М.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, РФ, Москва, пл. Академика Курчатова, 2;

<sup>2</sup>Научный центр неврологии РАМН, РФ, г. Москва, Волоколамское шоссе, д. 80;

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, РФ, г. Новосибирск, Красный проспект, 52;

<sup>4</sup>Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Приморская краевая клиническая больница № 1, РФ, г. Владивосток, ул. Алеутская, 57

[iggdrasil@img.ras.ru](mailto:iggdrasil@img.ras.ru)

Болезнь Паркинсона (БП) является одной из наиболее распространённых нейродегенеративных патологий, связанной с преимущественной гибелью дофаминергических нейронов. Характерной особенностью БП является длительный скрытый период развития заболевания, что обуславливает невозможность исследовать и диагностировать БП на самых ранних этапах патогенеза. Одним из подходов к решению этой проблемы является исследование периферической крови пациентов с БП, находящихся на ранних стадиях развития заболевания и не подвергавшихся лечению, поскольку лимфоциты экспрессируют ряд специфических для дофаминергических нейронов белков и, таким образом, могут рассматриваться в качестве модели этих нейронов. Изменения относительных уровней мРНК генов периферической крови могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров ранних стадий БП.

Нами было отобрано 10 генов, исходя из возможной роли кодируемых ими белков, в патогенезе БП. Был проведен анализ изменения относительных уровней мРНК генов с использованием методов обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с использованием TaqMan зондов.

Анализ проводился в периферической крови нескольких групп пациентов с недавно поставленным диагнозом БП (1-2 стадия по шкале Хен и Яра), подвергавшихся и не подвергавшихся лечению, группе пациентов с вероятной БП, в группе здорового контроля и группе неврологического контроля. Группы пациентов с БП включали в себя независимые выборки пациентов, подвергавшихся и не подвергавшихся лечению, сформированных в Научном центре неврологии, г. Москва, в Приморской краевой клинической больнице №1 г. Владивосток, а также группу пациентов с вероятной БП, сформированную в ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, г. Новосибирск.

По результатам анализа были выявлены статистически значимые изменения относительных уровней мРНК 8 генов. Кодируемые этими генами белки принимают участие в процессах, связанных с митохондриальным биогенезом, транспортом, аутофагией, окислительный стрессом и миелинизацией, что указывает на важную роль изменения функционирования этих процессов в патогенезе БП. Для генов *SNCA*, *ZNF746*, *VCP* показаны изменения относительных уровней мРНК на выборке пациентов с БП, не подвергавшихся лечению, а также на выборке пациентов с вероятной БП, что может указывать на то, что данные гены могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров БП.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда № 17-75-10119

## ВЛИЯНИЕ АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА БЕТА НА МОРФОЛОГИЮ И ФУНКЦИИ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Сурина Н.В<sup>1</sup>., Рябова Е.В<sup>1</sup>., Жмуйдина Д.Р<sup>1</sup>., Саранцева С.В<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Россия, г. Гатчина, Орлова роща  
[anilannas123@gmail.com](mailto:anilannas123@gmail.com)

Болезнь Альцгеймера (БА) – самая распространенная форма сенильной деменции, является значительной проблемой в мире. Приблизительно 5% людей в возрасте старше 65 лет страдают БА, и их количество увеличивается до 20% после 75 лет. По оценкам ученых, в 1998 году было зафиксировано 25 миллионов диагнозов БА по всему миру и это число существенно увеличивается в связи растущей тенденцией старения населения.

Симптомы болезни включают в себя деградацию социальных навыков и эмоциональную непредсказуемость, сопровождающуюся серьезным и необратимым когнитивным спадом. В среднем, продолжительность жизни заболевших от времени постановки диагноза составляет около 7-10 лет и эффективного лечения до сих пор не найдено. Основными гистопатоморфологическими маркерами болезни являются сенильные бляшки и нейрофибрилярные клубки. Мозг больного демонстрирует ярко выраженную нейродегенерацию.

При БА нарушаются функции не только самих нейронов, но и глиальных клеток, которые находятся в тесной связи с ними. Не исключено, что амилоидный пептид бета оказывает токсичное воздействие не только на нейроны, а также и на глиальные клетки. Таким образом, массовая гибель нейронов при БА может быть вызвана за счет нарушения структуры и сокращения численности нейроглии в мозге больного. Как известно, образование амилоидного пептида бета (Абета) у человека происходит в результате протеолиза белка APP гамма- и бета-секретазами. В данной работе были использованы трансгенные линии *Drosophila melanogaster* с экспрессией APP и бета-секретазы человека, а также линию несущую последовательность Абета, состоящую из 42 аминокислот. Эти линии хорошо воспроизводят основные патоморфологические и клинические проявления БА: образование Абета, снижение синаптической плотности и нейродегенерацию в мозге, снижение способности к обучению и запоминанию, нарушение поведения и т.д. Экспрессия трансгенов была проведена в разных типах глиальных клеток. Анализ морфологии глиальных клеток ЦНС *Drosophila*, периневральной, субпериневральной, глиии кортекса, астроцитоподобной и ensheathing глиии, был проведен на 5, 15 и 30 день жизни. Также в эти сроки была проведена оценка функциональной целостности гематоэнцефалического барьера мух, в мозге которых проходило образование и отложение амилоидного пептида бета.

## ЭТНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В РАСПРЕДЕЛЕНИИ ЧАСТОТ ГЕНОВ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА СРЕДИ БУРЯТ И РУССКИХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Табиханова Л.Э.<sup>1</sup>, Осипова Л.П.<sup>1,3</sup>, Воронина Е.Н.<sup>2,3</sup>, Филипенко М.Л.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Российская Федерация, г. Новосибирск, 630090, пр. ак. Лаврентьева, д. 10; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук»; <sup>3</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»

[tabikhan@bionet.nsc.ru](mailto:tabikhan@bionet.nsc.ru)

Нарушения липидного обмена лежат в основе патогенеза ряда заболеваний. Частоты риск-аллелей генов, ассоциированных с гиперлипидемией, могут различаться в популяциях.

Цель работы – на примере бурят и русских Восточной Сибири выявить этнические особенности в распределении полиморфных вариантов *СЕРТ* (rs5882), *LPL* (rs328) и *FTO* (rs8050136).

Выборки восточных (N=132) и западных (N=278) бурят, и русских (N=122) генотипированы с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов.

*СЕРТ* кодирует транспортер эфиров холестерина, который переводит холестерин из липопротеина высокой плотности в липопротеин низкой плотности. Частоты аллеля *G1264*, замедляющего активность белка *СЕРТ* и протективного к риску атеросклероза, выше у бурят (37,5% и 33,5%) по сравнению с русскими (31,1%), различия не являются статистически значимыми. Данные по выборке русских согласуются с частотами в других европеоидных группах [1].

Мутация *1791G* в гене *LPL* приводит к нарушению ферментативной активности липопротеинлипазы и ассоциирована с гипертриглицеридемией. Частота *1791G* равна 7,2% у восточных бурят, 8,6% у русских и 9,4% у западных бурят. Не найдено статистически значимых различий между нашими выборками, и данными литературы, согласно которым *1791G* встречается у 13% населения Восточной Азии и 12% у европейцев [1].

Ген *FTO* кодирует 2-оксоглутаратзависимую демителазу нуклеиновых кислот, которая подавляет липолиз, аллель *83401A* ассоциирован с высоким индексом массы тела. В настоящем исследовании показано, что частота его в выборках восточных и западных бурят (26,5% и 24,1%) статистически значимо ниже, чем у русских в нашей выборке (38,5%) и у других европейцев (38,9%-46,3%) [1]. Показаны статистически значимые отличия бурят от этнических выборок Восточной Азии, в которых частота *83401A* имеет наименьшие значения (13,8%–17,3%) [1]. Таким образом, у бурят наблюдается тенденция к меньшему популяционному риску ожирения и связанных с ним нарушений липидного обмена, по сравнению с русскими. Однако, необходимо в дальнейшем расширить панель генов липидного обмена для получения более точных результатов.

[1]. The 1000 Genomes Project Consortium., An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. // 2012, Nature, N 491, V.7422, P.56-65. DOI: 10.1038/nature11632.

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках государственного задания по проекту № 0324-2019-0041.

## РЕКОНСТРУКЦИЯ И АНАЛИЗ ГЕННОЙ СЕТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА И ВИРУСНЫХ ПРОЦЕССОВ: ПОИСК НОВЫХ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЁННЫХ В МЕХАНИЗМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Тийс Е.С.<sup>1,2</sup>, Иванисенко В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт Цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр.ак. Лаврентьева, 10;

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1  
[tiys@bionet.nsc.ru](mailto:tiys@bionet.nsc.ru)

Известно, что существует связь между болезнью Альцгеймера и некоторыми вирусными заболеваниями, такими как герпес. Однако молекулярные механизмы взаимодействия болезни Альцгеймера с вирусными процессами остаются плохо изученными. Реконструкция и анализ генных сетей является эффективным методом для описания и исследования паталогических процессов, в том числе и нарушений при болезни Альцгеймера. В ИЦиГ СО РАН разработана компьютерная система ANDSystem [1], которая позволяет автоматически извлекать знания из баз данных и текстов научных публикаций и проводить реконструкцию генных сетей. Для анализа был взят набор экспериментов GDS2601 из базы данных NCBI GEO. С помощью программы MeV [2] были найдены гены, обладающие значимым отличием в уровне экспрессии в группах мужчин и женщин больных Альцгеймером и здоровых. Оказалось, что гены имеющие дифференциальную экспрессию связаны с рядом биологических процессов среди которых статистически значимо сверхпредставлен “viral process” (корректированное р-значение=2.02E-14, PANTHER [3]). С использованием ANDSystem были реконструированны молекулярно-генетические пути взаимодействия генной сети “viral process” и генной сети болезни Альцгеймера. Найдены ключевые участники, через которые осуществляется такое взаимодействие. Данные гены могут быть играть важную роль в механизме заболевания при вирусных инфекциях.

[1]. Ivanisenko V.A. et al., ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology. // 2015, BMC systems biology., V.9, P.S2.

[2]. Saeed A.I. et al., TM4 microarray software suite. // 2006, Methods in enzymology., V.411, P.134-193.

[3]. Mi H. et al., PANTHER version 11: expanded annotation data from Gene Ontology and Reactome pathways, and data analysis tool enhancements. // 2016, Nucleic acids research., V.45, P.D183-D189.

## АНАЛИЗ МЕЖГЕННЫХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ ПРИ РАННЕМ И ПОЗДНЕМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ В ПОПУЛЯЦИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Тимофеева С.В., Нескубина О.М., Бутенко Е.В., Шкурат Т.П.

Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, кафедра генетики, Россия, Ростов-на-Дону, Стачки 194/1

*timofeeva.sophia@gmail.com*

Обязательным компонентом формирования атеросклеротической бляшки являются межгенные взаимодействия с участием нескольких функциональных семейств генов. Целью исследования было определить межгенные взаимодействия полиморфных вариантов генов липидного и углеводного обмена *PPARGC1A* (Gly482Ser), *LIPC* (G-250A), *LPL*(Ser447Ter), *APOE*(Leu28Pro), *APOC3* (C3238G), факторов окислительного *PON1*(Arg192Gln) и противовоспалительного гомеостаза *TNF $\alpha$*  (G-308-A), *EDN*(Lys198Asn), *SERPINE1*(675 5G/4G) участвующих в развитии раннего и позднего каротидного атеросклероза у жителей Ростовской области.

Для проведения молекулярно-генетического анализа генов-предикторов раннего и позднего атеросклероза были использованы образцы ДНК из лейкоцитов крови пациентов в возрасте от 29 до 79 лет. Пациенты были разделены на 3 группы (контрольная группа – лица старше 55 лет без атеросклеротических изменений в сосудах, группа с поздней манифестацией атеросклероза - старше 55 лет с атеросклеротическими бляшками и изменения в биохимическом профиле, и группа с проявлением атеросклероза в возрасте от 29 до 49 лет.

Анализ межгенных взаимосвязей был проведен при помощи метода сокращения многофакторной размерности Multifactor Dimensionality Reduction, MDR (<http://www.multifactordimensionalityreduction.org>).

При раннем атеросклерозе в генотипе жителей Ростовской области достоверно чаще встречаются следующие трехлокусные модели межгенных связей полиморфных аллелей:

*LIPC* (G250A) x *LPL*(Ser447Ter) x *PPARGC1A*(Gly482Ser)

*LPL*(Ser447Ter) x *APOE*(Leu28Pro) x *PPARGC1A*(Gly482Ser)

*LPL*(Ser447Ter) x *PPARGC1A*(Gly482Ser) x *EDN*(Lys198Asn)

*LIPC* (G250A) x *LPL*(Ser447Ter) x *APOE*(Leu28Pro)

При позднем каротидном атеросклерозе в генотипе жителей Ростовской области достоверно чаще встречаются два трехлокусных сочетания межгенных связей:

*LIPC*(G250A) x *PON1*(Arg192Gln) x *EDN*(Lys198Asn)

*LIPC* (G250A) x *PPARGC1A*(Gly482Ser) x *EDN*(Lys198Asn)

Сочетание в генотипе полиморфных аллелей (G250A) гена *LIPC* и (Ser447Ter) гена *LPL* обладают синергическим потенциалом при развитии позднего выраженного проявления каротидного атеросклероза.

**Благодарности:** Исследование выполнено в рамках базовой части госзадания МОН РФ по теме: "Исследования функциональной роли генетических полиморфизмов и микро РНК в геноме человека и животных", проект № 6.6762.2017 БЧ.

## ВЛИЯНИЕ ТОЧЕЧНЫХ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *SOD2* НА ПРОГНОЗ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Трофимов А.В., Трофимов В.А.

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», Россия, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Ульянова 26  
[geneticLab@jandex.ru](mailto:geneticLab@jandex.ru)

Инсульт относительно часто встречаемое (951 на 100 тыс. человек) трудно лечимое заболевание, риск развития которого прогрессивно возрастает с увеличением возраста и является одной из наиболее частых причин смерти и инвалидизации. Смертность составляет 33 % больных в острой фазе заболевания, 50% через год после возникновения заболевания. Инсульт, как заболевание, возникает вследствие нарушения функции кровеносных сосудов и формирования очага ишемии в ткани головного мозга, приводящего к гибели нейронов и возникновению неврологических расстройств. В очаге ишемии важнейшим патогенетическим фактором, приводящим к модификации биомолекул липидов, белков и нуклеиновых кислот, развитию клеточных дисфункций является резкая интенсификация свободнорадикальных процессов, включая гиперпродукцию активных форм кислорода, что является причиной формирования патологического фенотипа нервной клетки. Митохондриальная супероксиддисмутаза (*SOD2*) – ключевой фермент антиоксидантной системы клетки, обеспечивающий дисмутацию супероксидного радикала и ингибирование свободнорадикальных процессов на начальном этапе их образования.

Выявлен ряд полиморфизмов гена *SOD2*, которые приводят к снижению антиоксидантной защиты клетки и ассоциированы с различными, в том числе неврологическими заболеваниями, включая болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, болезнь двигательного нейрона и другие.

Нами проводится исследование по определению ассоциации полиморфизмов rs4880 и rs2758330 гена *SOD2* с тяжестью инсульта. В группу обследуемых были включены пациенты с ишемическим инсультом (атеротромботический подтип).

В группе обследуемых аллель С полиморфизма rs4880 гена *SOD2* встречается на 64% чаще, чем в выборке относительно здоровых лиц (доноров) ( $p=0,01$ ,  $OR=2,13$ ,  $CI_{1,18-3,85}$ ). Частота встречаемости генотипа ТТ также в среднем на 65% выше, чем в выборке доноров ( $p=0,02$ ,  $OR=1,76$ ,  $CI_{0,53-5,90}$ ). Частота встречаемости генотипа СТ также в среднем на 65% выше, чем в выборке доноров ( $p=0,02$ ,  $OR=2,44$ ,  $CI_{1,09-5,47}$ ).

В группе больных с ишемическим инсультом аллель G полиморфизма rs2758330 гена *SOD2* встречается на 24% чаще, чем в выборке относительно здоровых лиц (доноров) ( $p=0,43$ ,  $OR=1,30$ ,  $CI_{0,68-2,49}$ ). Частота встречаемости генотипа GT/GG также в среднем на 17% выше, чем в выборке доноров ( $p=0,53$ ,  $OR=1,27$ ,  $CI_{0,60-2,72}$ ).

Таким образом, наличие полиморфизма rs4880 гена *SOD2* у больных с ишемическими инсультами выступает плохим прогностическим признаком заболевания.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНА *ALPL* В ГРУППЕ РОССИЙСКИХ ПАЦИЕНТОВ С ПОДОЗРЕНИЕМ НА ГИПОФОСФАТАЗИЮ.

Федяков М.А.<sup>1</sup>, Эйсмонт Ю.А.<sup>1</sup>, Иващенко Т.Э.<sup>2</sup>, Соснина И.Б.<sup>3</sup>, Снегова Е.В.<sup>3</sup>,  
Ивашкина Т.М.<sup>3</sup>, А.М. Сарана<sup>1,4</sup>, С.Г. Щербак<sup>1,4</sup>, О.С. Глотов<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>СПб ГБУЗ «Городская больница № 40», Россия, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Лаборатория пренатальной диагностики ФГБНУ «НИИ АГиР им. Отта», Россия, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>СПб ГБУЗ «Консультативно-диагностический центр для детей»», Россия, Санкт-Петербург

<sup>4</sup>Санкт-Петербургский государственный университет», Россия, Санкт-Петербург

[fedyakovma@mail.ru](mailto:fedyakovma@mail.ru)

Гипофосфатазия (ГФФ) – редкое наследственное заболевание, при котором нарушены процессы минерализации костей и зубов. ГФФ связана с патогенными мутациями в гене *ALPL*, кодирующем тканевую неспецифическую щелочную фосфатазу. Клинический спектр проявлений ГФФ крайне variabelен, выделяют тяжелые (перинатальная и инфантильная) и мягкие (детская, взрослая, одонтогенная) формы заболевания. Тяжелые формы ГФФ наследуются аутосомно-рецессивно, встречаются в общей популяции с частотой 1/100000-1/300000. Мягкие формы менее изучены, наследуются как рецессивно, так и доминантно, по некоторым оценкам могут встречаться с частотой 1/6000. Разработана фермент-заместительная терапия рекомбинантным препаратом фосфатазой-альфа, которая успешно применяется в лечении перинатальной, инфантильной и детской форм ГФФ, эффективность при взрослой и одонтогенной форме не доказана. Российская популяция недостаточно изучена с точки зрения эпидемиологических и молекулярно-генетических аспектов ГФФ.

В рамках исследования были обследованы 112 неродственных человек с подозрением на ГФФ (минимальные показания для включения – уровень ЩФ сыворотки крови ниже возрастной нормы и/или совокупность клинических признаков: низкий непропорциональный рост, мышечная слабость, миалгия, повторяющиеся переломы, нарушение формирования и ранняя потеря зубов, остеомалиция и др.). Праймерная система была подобрана для всех кодирующих последовательностей гена *ALPL* (2-12 экзоны), а также экзон-интронных участков. Анализ геномной ДНК проводился методом прямого автоматического секвенирования на приборе ABI 3500х.

Средний возраст в группе исследуемых составил 9 лет (медианный – 7,5 лет): 66 пробандов мужского пола (средний возраст 8 лет), 46 – женского (средний возраст 11 лет). Низкий уровень ЩФ сыворотки крови был зарегистрирован у 79% (89/112), повторяющийся низкий уровень ЩФ – у 46% (51/112). Патогенные варианты были выявлены в 13% случаев (15/112) – 13 раз в гетерозиготном состоянии и 2 раза в компаунд-гетерозиготном состоянии, в том числе 3 новых варианта. Чаще всего (7 раз в гетерозиготном состоянии) встречался вариант p.E191K в 6 экзоне гена *ALPL*. Частота данного варианта в исследуемой группе составила 6,25% (7/112), что 25 раз чаще, чем в общей популяции (0,25% по данным базы gnomAD).

Проведен анализ группы пациентов российской популяции с минимальными критериями отбора. В 87% (13/15) случаев выявлена мягкая форма ГФФ с аутосомно-доминантным характером наследования, мажорный вариант - p.E191K.

## FUNCTIONAL ANALYSIS OF INTRONIC AND EXONIC SINGLE NUCLEOTIDE VARIANTS AFFECTING SPLICING IN THE *PAX6* GENE.

Filatova A. Yu.<sup>1</sup>, Vasilyeva T. A.<sup>1</sup>, Marakhonov A. V.<sup>1,2</sup>, Voskresenskaya A. A.<sup>3</sup>,  
Zinchenko R. A.<sup>1,4</sup>, Skoblov M. Yu.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Research Centre for Medical Genetics, Russia, Moscow, 1, Moskvorechie St., 115522;

<sup>2</sup>Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Russia, Moscow, 1 "A" Kerchenskaya st., 117303

<sup>3</sup>Cheboksary branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Russia, Cheboksary, 10 Traktorstroiteley Pr., 428028;

<sup>4</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Russia, Moscow, 1, Ostrovitianov st., 117997

[maacc@yandex.ru](mailto:maacc@yandex.ru)

The development of Next-Generation Sequencing technology revealed that significant part of the Mendelian disease-associated single nucleotide variants (SNVs) affects splicing. However, such variants are not distributed uniformly in the disease-associated genes. Mutations with autosomal dominant inheritance showed a splicing mutation enrichment in haploinsufficient genes as compared to haplosufficient genes, since such mutations most frequently leads to loss of gene function [1]. Nevertheless, because of the complexity of splicing regulation, it is not possible to predict accurately the effect of SNVs on splicing events and mRNA structure. This is a reason why some pathogenic nucleotide variants affecting splicing remain outside the databases or are misclassified.

In the present work, we investigate the variants affecting splicing in the *PAX6* gene. Heterozygous loss-of-function variants and haploinsufficiency of this gene is the main mechanism of a congenital aniridia etiopathogenesis. Nevertheless, true functional consequences of different types of *PAX6* variants, which could include effects on splicing, are still in question.

A previously conducted molecular genetics study of a cohort of patients from 114 unrelated Russian families with a clinical diagnosis of congenital aniridia revealed eight SNVs out of canonical splicing site dinucleotides, which may affect splicing: six intronic, one missense and one synonymous variants. Using minigene-splicing assay we revealed that seven out of these variants lead to the disruption of normal splicing patterns through the different mechanisms. (i) Disruption of native splicing-sites (SSs) that leads to exon skipping (for c.140A>G (missense) and c.1032+6T>G c.141+4A>G). (ii) Disruption of native splicing-site with activation of downstream cryptic SS and exon elongation (for c.682+4delA). (iii) Creation of a novel SSs in intron, resulted in exon extension (for c.142-5T>G and c.142-14C>G). (iiib) Creation of a novel SSs in exon with exon shortening (for c.174C>T (synonymous)). All these mRNA alterations lead to a frameshift and creation a premature termination codon (PTC) followed by mRNA degradation through the nonsense-mediated decay pathway. This produces a null-allele of the *PAX6* gene.

Thus, functional analysis allowed us to reclassify the investigated variants as loss-of-function and to establish their pathogenic role.

[1]. Soemedi R., Cygan K., Rhine C., Wang J, Bulacan C., Yang J., Bayrak-Toydemir P., McDonald J., Fairbrother W., Pathogenic variants that alter protein code often disrupt splicing. // 2017, Nat. Genet., V. 49(6), P.848-855.

**Acknowledgments:** This work is supported by RFBR grant 17-04-00475.

## MULTIPLE FETAL MALFORMATIONS CAUSED BY KIAA1109 PATHOGENIC VARIANTS

Фреире М.<sup>1</sup>, Филатова А. Ю.<sup>1</sup>, Лозиер Е.Р.<sup>2</sup>, Коновалов Ф. А.<sup>2</sup>, Бессонова Л. А.<sup>1</sup>,  
Юдина Е. В.<sup>3</sup>, Гнетецкая В. А.<sup>3</sup>, Канивец И. В.<sup>2</sup>, Коростелев С. А.<sup>2,4</sup>, Скоблов М. Ю.<sup>1,5,6</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Россия, г. Москва, ул Москворечье 1;

<sup>2</sup> Лаборатория молекулярной патологии "Геномед", Россия, г. Москва, Подольское шоссе 8к5;

<sup>3</sup> Группа компаний Мать и Дитя, Россия, г. Москва, ул. Бутырская 46; <sup>4</sup> Первый Московский  
государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Россия, г. Москва, ул.

Большая Пироговская 2; <sup>5</sup> Дальневосточный Федеральный Университет, Россия, г.

Владивосток, ул. Суханова, 8; <sup>6</sup> ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт  
(государственный университет)», Россия, г. Долгопрудный, Институтский переулок 9

[fm216@mail.ru](mailto:fm216@mail.ru)

To date, only one third of all described genes have also a phenotype description, and new genes are constantly linked to previously unknown pathological features. In this case, an exhaustive work to find the molecular cause of the multiple malformations found in a fetus in a family with a history of 2 previous miscarriages was performed. After the exclusion of any chromosomal pathology, in a whole exome sequencing of the fetal material the variants NG\_015813.1:c.1932-3A>G and NG\_015813.1:c.2613+1G>A were identified in a previously unknown gene *KIAA1109* in a heterozygous state. First, we found in a deep literature search that this gene is highly conserved across species, has lots of molecular interactions, is broadly expressed in the majority of tissues and is not tolerant to the presence of Lof variants. Additionally, knock outs (KO) and knock downs of the gene in various model organisms caused important alterations and homozygous KO mice had high embryonic lethality. This reassured us that *KIAA1109* has an unknown, but important role in the early development. After that, we found that the first variant was inherited from the mother and the second variant came from the father. RT-PCR analysis showed that c.1932-3A>G disrupts native donor splice site (SS) and creates a novel acceptor AG dinucleotide within intron 16, resulting in a two nucleotide extension of exon 17 with a frameshift and a truncated protein p.(S645Gfs 32). The second c.2613+1G>A variant disrupts intron 20 SS and leads to exon 20 skipping p.(V825\_Q872del). The last step needed to link *KIAA1109* gene to the phenotype was to confirm its importance in a model organism, which was not possible to be performed in our institution. However, while we were performing our work, an Gueneau et al [1] article was published. There, they describe *KIAA1109* variants that were associated with a brain development alterations and arthrogryposis and call it Alkuraya-Kučinskas syndrome (MIM 617822). In this scope, both variants were classified as pathogenic according to ACMG criteria (c.1932-3A>G: Ia (PVS1, PS3, PM2) и c.2613+1G>A: IIIa (PS3, PM2, PM3, PM4)). The last unplanned pregnancy of the couple resulted in twins, one of them carrier of c.1932-3A>G variant in a heterozygous state and the other had the two pathological variants in a compound heterozygous state. A fetal reduction was performed, and now they parents have a healthy boy.

[1] Gueneau L. et al. KIAA1109 Variants Are Associated with a Severe Disorder of Brain Development and Arthrogryposis. // 2018, Am J Hum Genet, 102(1), P. 116-132

## ПОЛНОФЕНОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДАННЫХ GWAS ДЛЯ СИСТЕМНОГО АНАЛИЗА КОМПЛЕКСНЫХ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ЧЕЛОВЕКА.

Шиков А.Е.<sup>1,2,3</sup>, Барбитов Ю.А.<sup>1,2,3</sup>, Предеус А.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Городская больница №40, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup>СПбГУ, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup>Институт Биоинформатики, Санкт-Петербург, Россия

[shik-999@inbox.ru](mailto:shik-999@inbox.ru)

GWAS (genome-wide association studies) позволили накопить огромное число генетических данных, что существенно повлияло на прогресс в области генетики человека. По этой причине крупномасштабные генетические проекты, такие как данные UK Biobank предоставляют отличную возможность для всестороннего изучения генетики человека. Эти данные включают около 2,5 тыс. фенотипов и 500 тыс. человек. Многочисленные исследования по этим данным были сосредоточены на определенных фенотипических группах [1], тогда как наша работа представляет собой первое полнофеномное изучение данных UK Biobank на предмет выявления и системного анализа плейотропных локусов. Для проведения данной работы мы осуществили кластеризацию представленных фенотипов, получив группы с похожей генетической архитектурой, а затем сделали подробный функциональный анализ полученных кластеров (связанных, в частности, с индексом массы тела и ожирением, различными тромбоэмболиями, нарушениями обмена липидов и т.д.). Среди представленных вариантов, мы отобрали около 2 тыс. наиболее значимых плейотропных вариантов, применив пуассоновское моделирование. Используя эти снипы, мы построили граф, вершинами которого являются кластера фенотипов, а ребрами генетические локусы (с учетом LD-score). Данный граф представляет собой наглядную модель локусов со множественными ассоциациями, обладающих схожими плейотропными эффектами. Анализ плотных подграфов, в которых локус делят между собой каждый кластер, предоставил нам целый набор заслуживающих внимание плейотропных генов и сцепленных локусов. Помимо МНС локуса мы обнаружили высокую степень плейотропии для генов, вовлеченных в апоптоз, каскад свертываемости крови и липидный обмен. Мы акцентировали своё внимание на анализе единичных плейотропных локусов, составляющих плотные подграфы, таких как MSRA, LPA, FTO и т.д. наиболее интересной находкой мы считаем *MIR2113* – микроРНК, ассоциированная с кластерами, связанными с когнитивными функциями [2], а также поддержанием ионного баланса. Таким образом, наше исследование является первым шагом в системном полнофеномном подходе для выявления наиболее значимых локусов в комплексных фенотипических признаках, что может впоследствии углубить наше понимание в формировании паталогических состояний и помочь осуществить моделирование развития заболеваний.

[1]. Zengini E. et al. Genome-wide analyses using UK Biobank data provide insights into the genetic architecture of osteoarthritis. // 2018, Nat Genet., V.50, P. 549-558.

[2]. Andrews S.J., Das D., Anstey K.J., Eastel S. Association of AKAP6 and MIR2113 with cognitive performance in a population-based sample of older adults. // 2017, Genes Brain Behav., V.16, P. 472-478.

## АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *FTO* и *PON1* С ЭКЗОГЕННО-КОНСТИТУЦИОНАЛЬНЫМ ОЖИРЕНИЕМ 1-2 СТЕПЕНИ У ПОДРОСТКОВ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Теплякова Е.Д.<sup>1</sup>, Бочарова О.В.<sup>1</sup>, Шкурят М.А.<sup>2</sup>, Машкина Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> МБУЗ «Городская поликлиника №4», Россия, Ростов-на-Дону, пер. Днепровский 122/1

<sup>2</sup> Южный федеральный университет Россия, Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1

Ожирение обычно возникает, когда потребление калорий превышает метаболические потребности в гомеостазе тканей в течение длительного времени. Несколько независимых полногеномных исследований ассоциаций выявили достоверную корреляцию между индексом массы тела и полиморфизмами в гене *FTO* человека [1, 2]. Установлено, что замена нуклеотида Т на А (rs9939609) в первом интроне гена *FTO* ассоциируется с повышенной экспрессией гена. Высокая экспрессия гена *FTO* приводит к увеличению потребления пищи, а соответственно к увеличению массы тела. Фермент параоксоназа *PON1* гидролизует широкий диапазон токсических органических фосфористых метаболитов, включая эфиры ароматических кислот. Белок участвует в защите частиц липопротеинов низкой плотности от окисления. Этот класс липопротеинов является одним из основных переносчиков холестерина в крови. Мутация в гене *PON1* (Gln192Arg) приводит к его низкой экспрессии.

Методы. В исследовании приняли участие 206 человек (91 девочка и 115 мальчиков) с экзогенно-конституциональным ожирением (ЭКО) 1-2 степени (Е66.0). Контрольная группа состояла из 77 человек (27 девочек и 50 мальчиков). Анализ Т/А (rs9939609) полиморфизма гена *FTO* осуществляли с помощью полимеразной цепной реакции и рестрикционного анализа. Анализ полиморфизма гена *PON1* Gln192Arg (rs662) методом аллель специфической реакции.

Результаты. Частота аллеля А гена *FTO* у подростков с ожирением составила 0,65 что статистически значимо выше, чем в контрольной выборке (0,37,  $p=0,001$ ). Распределение генотипов Т/А полиморфизма гена *FTO* (ТТ - 31,2%, ТА - 46,4%, АА - 22,4%) в группе лиц с ЭКО значимо отличалось от распределения генотипов в контрольной выборке (ТТ - 42,6%, ТА - 38,9%, АА - 18,5%;  $p=0,0011$ ). Частота аллеля Arg192Arg гена *PON1* у подростков с ЭКО составила 0,27, в то время как в контрольной группе 0,25, достоверных отличий не выявлено. Однако при наличии гомозиготного фенотипа АА гена *FTO* и одного аллеля 192Arg гена *PON1* наблюдали увеличение массы тела в среднем на 2,8 кг по сравнению с другими пациентами с ЭКО 1-2 степени.

[1]. Frayling, T. M. *et al.* A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 316, 889–894 (2007)

[2]. Dina, C. *et al.* Variation in *FTO* contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nature Genet.* **39**, 724–726 (2007)

Благодарности: Исследование выполнено в рамках гранта Минобрнауки России № 6.6762.2017 БЧ.

## СПЕКТР СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Щаюк А.Н.<sup>1</sup>, Михаленко Е.П.<sup>1</sup>, Малышева О.М.<sup>1</sup>, Шепетько М.Н.<sup>2</sup>,  
Лебецкий В.Г.<sup>3</sup>, Литохин В.И.<sup>4</sup>, академик Кильчевский А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27; <sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, Минск, пр-т Дзержинского, 83; <sup>3</sup>Городское клиническое патологоанатомическое бюро, Республика Беларусь, Минск, ул. Семашко, д.8, корп.8; <sup>4</sup>УЗ «Минский городской клинический онкологический диспансер», Республика Беларусь, Минск, пр-т Независимости, 64

[anna.shchayuk@tut.by](mailto:anna.shchayuk@tut.by)

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) составляет 85% от всех типов рака легкого. В связи с развитием персонализированного подхода к лечению пациентов, большое значение имеют исследования молекулярно-генетических особенностей опухоли, которые позволяют прогнозировать развитие и течение заболевания и оптимизировать индивидуальную противоопухолевую терапию.

Целью данного исследования было изучить соматические мутации у пациентов с немелкоклеточным раком легкого, проживающих на территории Беларуси, с использованием технологии секвенирования нового поколения.

В исследование включены 101 пациент с диагнозом НМРЛ (78 мужчин, 23 женщины), проходивших лечение в Минском городском онкологическом диспансере с 2012 по 2018 гг. В исследуемую группу вошли 50 пациентов с плоскоклеточным раком (ПКРЛ) и 51 – с аденокарциномой (АК). Пробоподготовку образцов ДНК для анализа с использованием набора TruSeq Amplicon Cancer Panel проводили в соответствии с инструкцией фирмы-производителя на приборе MiSeq (Illumina, США).

После проведения фильтрации путем исключения всех вариантов с низким качеством (глубина прочтения <50; частота альтернативного аллеля <15%; варианты, не прошедшие PASS-фильтр) в общей сложности получено 86 вариантов соматических мутаций по 101 образцу опухолей, в среднем 0,85 вариантов на опухоль. При АК соматические мутации чаще всего обнаруживались в генах *EGFR* (25,5%), *KRAS* (17,6%), *TP53* (9,8%), *ATM* (7,5%), *CTNNB1* (5,7%), *STK11* (5,7%); при ПКРЛ – в генах *TP53* (26,0%), *ATM* (14,0%), *FBXW7* (8,0%), *FGFR3* (6,0%), *JAK3* (6,0%), *RET* (6,0%), *APC* (4,0%), *EGFR* (4,0%), *PIK3CA* (4,0%).

Анализ ассоциации изучаемых соматических мутаций с развитием определенного гистологического типа показал, что мутации генов *EGFR* и *KRAS* ассоциированы с развитием АК (OR=9,08; 95% CI 1,94-42,48; p=0,003 и OR=10,50; 95% CI 1,28-86,37; p=0,02, соответственно). Наблюдается увеличение частоты встречаемости мутаций гена *TP53* у пациентов с ПКРЛ (OR=3,23; 95% CI 1,06-9,89; p=0,06). Среди носителей мутаций в гене *EGFR* преобладают женщины: частота мутаций у женщин составила 56,5%, а среди мужчин только 3,8% (OR=32,50; 95%CI 7,87–134,26). Соматические мутации в гене *KRAS* выявлены у 10 пациентов, обнаружены только у мужчин (12,8%) и не встречались у женщин. Соматические мутации в гене *TP53* обнаружены преимущественно у мужчин (21,8%) и только у одной женщины (4,3%).

На следующем этапе проводятся исследования по определению клинической значимости выявленных мутаций на прогноз течения заболевания.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЯХ ЭПИТЕЛИЯ БРОНХОВ, ПРЕДШЕСТВУЮЩИХ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМУ РАКУ ЛЕГКОГО

Щеголева А.А.<sup>1</sup>, Денисов Е.В.<sup>1,2</sup> Гервас П.А.<sup>1,2</sup>, Пономарева А.А.<sup>1</sup>, Зарубин А.А.<sup>3</sup>,  
Чердынцева Н.В.<sup>1,2</sup>, Панкова О.В.<sup>1</sup>, Перельмутер В.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН, Россия, Томск

<sup>2</sup>Томский государственный университет, Россия, Томск

<sup>3</sup>НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ РАН, Россия, Томск  
[shegolmay@gmail.com](mailto:shegolmay@gmail.com)

Как и другие злокачественные новообразования, плоскоклеточный рак легкого (ПРЛ), один из часто встречающихся типов рака легкого, развивается на фоне появления генетических нарушений в клетках эпителия бронхов и характеризуется агрессивным течением. Выявление ПРЛ на ранней стадии, в том числе предсказание риска развития данного заболевания, является актуальной задачей в настоящее время. Предопухоловый процесс ПРЛ протекает поэтапно через морфологические изменения бронхиального эпителия, такие как базальноклеточная гиперплазия, плоскоклеточная метаплазия и дисплазия [1]. Такие изменения эпителия бронхов могут встречаться как изолированно, так и в различных сочетаниях друг с другом, тем самым, вероятно, отражая различные этапы предопухолового процесса [2]. К сожалению, предопухоловый процесс, являясь важным этапом в формировании ПРЛ, остается слабо изученным. Целью данной работы был поиск генетических нарушений в морфологических изменениях бронхиального эпителия на разных этапах предопухолового процесса. Бронхиальные изменения получали из операционного материала ткани легкого больных ПРЛ с помощью лазерной микродиссекции, подвергали полногеномной амплификации (Doplify, RHS) и секвенированию “горячих” участков генома (NEBNext Direct Cancer HotSpot, NEB). В ходе исследования было установлено, что в предопухоловых изменениях бронхиального эпителия обнаруживаются различные генетические нарушения. Аберрации детектировались как в кодирующих участках генов, так и в интронах и регионах, содержащих некодирующие РНК. Например, мутации были найдены в 7-м экзоне гена *IFNGR1*, в интронах генов *AKR1A1*, *PSD3*, *CPM*, *SOS2*, в гене длинной некодирующей РНК *PRNCRI* и гене микроРНК *MIR3681HG*. Хотя исследование продолжается, и окончательные результаты планируются к представлению на конференции, уже сейчас очевидно, что генетические нарушения возникают в клетках эпителия бронхов на ранних этапах предопухолового процесса и затрагивают различные участки генома.

[1]. Kadara H., Wistuba I.I. Molecular biology of lung preneoplasia. In: Roth JA, Hong WK, Komaki RU, editors. Lung cancer. Fourth ed. Hoboken: Wiley; 2014. p. 110–28.

[2]. Панкова О.В. Морфофункциональные особенности респираторного эпителия при немелкоклеточном раке легкого и хроническом воспалении и их связь с прогрессией опухолевого и предопухоловых процессов: Автореф. докт. дис. СПб., 2018.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке стипендии Президента РФ (№ СП-1549.2018.4).

## ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ 21 НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН И ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ПЕЧЕНИ У МЫШЕЙ С ОЖИРЕНИЕМ ЗАВИСИТ ОТ ПОЛА

Бажан Н.М., Яковлева Т.В., Денисова Е.И., Дубинина А.Д., Макарова Е.Н.

Институт цитологии и генетики Сибирского Отделения Российской Академии Наук, Россия, Новосибирск, 630090, Проспект Лаврентьева, 10

[bazhan-nm@yandex.ru](mailto:bazhan-nm@yandex.ru)

Фактор роста фибробластов 21 (fibroblast growth factor, FGF21) – гормон печеночного происхождения - способствует адаптации организма к метаболическим стрессам. В последнее время его рассматривают как перспективное средство купирования ожирения и нормализации углеводно-жирового обмена у людей и в моделях ожирения у грызунов. Эффекты FGF21 опосредуются его влиянием на экспрессию генов в метаболических органах, в частности в печени. Все исследования, направленные на выяснение роли FGF21 при ожирении, были выполнены на особях мужского пола. Известно, что регуляция углеводно-жирового обмена зависит от пола. Цель настоящей работы выяснить, будет ли на самках мышей с диетарным ожирением проявляться благоприятный эффект FGF21 на вес тела и на экспрессию генов печени, вовлеченных в регуляцию углеводно-жирового обмена.

У самцов и самок мышей C57Bl, которые на протяжении 10 недель потребляли стандартный лабораторный корм с добавлением семян подсолнечника, сала и печени, развивалось диет-индуцированное ожирение (ДИО мыши). На протяжении 7 дней им вводили буфер или FGF21 (1 мг/кг веса). Затем у ДИО мышей измеряли толерантность к глюкозе и после декапитации забирали кровь и образцы печени.

У мышей обоих полов FGF21 снижал вес тела. Только у самцов FGF21 улучшал ещё и показатели углеводно-жирового обмена: снижал в крови уровни жирных кислот и повышал толерантность к глюкозе. У ДИО мышей профиль транскрипции генов печени, а также транскрипционный ответ на введение FGF21 зависели от пола. В контрольной группе у самок ДИО мышей была повышена, относительно самцов, экспрессия генов печени, вовлеченных в процессы митохондриального биогенеза (*Pgc1*, *Ppara*, *Klb*), окисления жирных кислот (*Cpt1*, *Ucp3*), липогенеза/липолиза (*Accb*, *Fas*, *Atgl*), чувствительности к инсулину (*InsR*), транспорта глюкозы (*Glut2*). Введение FGF21 не влияло на экспрессию генов печени у самок ДИО мышей и повышало экспрессию генов-индикаторов окисления глюкозы (*Gck*) и жирных кислот (*Pgc1*), синтеза жирных кислот (*Fas*), чувствительности к инсулину (*InsR*) и липолиза триглицеридов. Эти транскрипционные сдвиги могут лежать в основе повышения толерантности к глюкозе у самцов ДИО мышей при действии экзогенного FGF21.

Половые различия в реакции метаболической системы на введение FGF21 необходимо учитывать при разработке терапевтических подходов для лечения ожирения и связанного с ним диабета 2 типа с использованием FGF21 или его аналогов.

**Благодарность:** Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-15-01036.

## IDENTIFICATION OF THE UNIQUE AND COMMON GENES FOR ASTHMA AND COPD: A CASE-CONTROL STUDY IN A KAZAKH POPULATION

Bersimbaev R.I., Akparova A.Yu., Aripova A.A.

L.N. Gumilyov Eurasian National University, Kazakhstan, Astana, Satpayev str.2

*ribers@mail.ru*

Asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are lung inflammatory diseases characterized by bronchial obstruction, which is often the cause of difficulties in conducting differential diagnosis between them [1]. Asthma and COPD belong to the polygenic diseases which arise in a result of the gene-environment interactions. Identification of the unique and common genes for these diseases facilitates understanding of their complicated pathogenesis, and provides possible markers for their diagnosis and treatment [2]. The aim of this study was to investigate the association of two single-nucleotide polymorphisms (1082 A/G *IL-10* and His161Arg *IL-17F*) with asthma and COPD in a Kazakh population. The study group consisted of 72 COPD patients, 71 patients with asthma and 70 control individuals. Patients with asthma and COPD were matched with respect to age and gender status with healthy individuals. Genotyping was performed on purified DNA by using real-time polymerase chain reaction with specific primers and probes. Results revealed that the G allele and GG genotype frequencies of -1082 A/G *IL-10* polymorphism were significantly different between the COPD patients and the controls. Furthermore, the G allele and GG genotype of His161Arg *IL-17F* were significantly more common in the COPD patients than among the control individuals ( $P < 0.05$ ). No associations were observed for any of these examined SNPs with asthma. This study examined the involvement of the *IL-10* and *IL-17F* genes to the development of asthma and COPD in a Kazakh population. We concluded that His161Arg polymorphism in *IL-17F* gene and -1082A/G polymorphism in *IL-10* are associated with COPD and may serve as a differential markers for this disease in population of ethnic Kazakhs. The study of the polymorphisms of these genes in large group of patients and healthy subjects with detailed patient characteristics may allow the use of these polymorphisms in the diagnosis of COPD subtypes and the use of suitable therapeutic approaches.

[1]. Stockley R.A. Biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease: confusing or useful? // 2014, *IntJ Chron Obstruct Pulmon Dis.*, V.9, P.163-217.

[2]. Paone G., Leone V., Conti V., De Marchis L., Lalleni E., Graziani C., Salducci M., Ramaccia M., Munafo G., Blood and sputum biomarkers in COPD and asthma: a review. // 2016, *Eur Rev Med Pharmacol Sci.*, V.20 (4), P.698-708.

## ВКЛАД ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ В РИСК РАЗВИТИЯ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Джамбетова П.М., Бисултанова З.И.

ФБГОУ ВО «Чеченский государственный университет» Россия, Грозный, ул. Шерипова, 32  
[petimat09@gmail.com](mailto:petimat09@gmail.com)

В настоящее время рак молочной железы (РМЖ) является самым распространенным видом опухолей и основной причиной смертности женщин от данной патологии в мире. В основе образования опухолей лежит сбой генетической программы и изучение генетических детерминант приобрело первостепенное значение. Известно, что маркерные локусы в одних и тех же генах могут сильно варьировать в зависимости от этногеографических особенностей индивидов. В связи с чем, изучение полиморфизмов генов с учетом популяционных различий является актуальным направлением генетико-эпидемиологических исследований.

В настоящей работе исследованы полиморфные варианты генов *XRCC1* (rs1799782) и *RAD51B* (rs10483813) среди женщин чеченской популяции. Материалом для исследования ДНК была использована венозная кровь пациенток с клинически установленным диагнозом РМЖ (n=114) и у 100 здоровых женщин, для формирования контрольной группы. Генотипирование проводили методом Real-Time ПЦР. Изучены наиболее распространенные полиморфизмы генов *XRCC1* (rs1799782) и *RAD51B* (rs10483813), носительство которых сопряжено с риском развития ряда онкозаболеваний.

Было обнаружено, что мутация 470Т>С в гене *XRCC1* (rs1799782) возможно участвует в патогенезе РМЖ у женщин, поскольку выявлен в гомозиготе у 1 пациентки (0,9%) и 8 человек оказались носителями этого аллеля (7,0%). Достоверно выявлен значимый риск развития РМЖ при наличии у женщин полиморфизма 470Т>С гена *XRCC1*. Анализ сопряженности показал высокий риск развития РМЖ ( $p = 0,04$ ), что указывает на участие данной мутации в патогенезе РМЖ.

Известно, что семейство генов *RAD51* критически детерминирует обширную генетическую нестабильность, вызванную потерей их активности. Идентифицирован миссенс-вариант А>G в гене *RAD51B* в 2-х случаях у женщин, больных РМЖ (5,8%) и у двоих здоровых лиц (2,7%), что указывает на значимость минорного аллеля G в риске развития РМЖ.

Таким образом, изучение роли полиморфизма генов репарации *XRCC1* и *RAD51B* в патогенезе РМЖ выявило неоднозначный характер влияния изученных полиморфизмов на риск развития злокачественных новообразований груди, а также предоставило доказательство в поддержку теории, что гены репарации ДНК связаны с риском развития РМЖ. Это дает дополнительную информацию для полного понимания этиологии рака молочной железы, выявления потенциальных биологических механизмов, связывающих репарацию ДНК, этническое происхождение, факторы окружающей среды и риск развития злокачественных патологий, что, безусловно, требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при поддержке гранта 18-415-200001 p\_a РФФИ.

## МОДУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ НОРАДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА ГОРМОНАМИ СТРЕССА В ОНТОГЕНЕЗЕ

Калинина Т.С.<sup>1,2</sup>, Сухарева Е.В.<sup>1,2</sup>, Ланшаков Д.А.<sup>1,2</sup>, Булыгина В.В.<sup>1</sup>, Шишкина Г.Т.<sup>1</sup>, Дыгало Н.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090, пр. Лаврентьева, 10;

<sup>2</sup>НГУ, Россия, Новосибирск, 630090, пр. Пирогова, 2

[kalin@bionet.nsc.ru](mailto:kalin@bionet.nsc.ru)

Гормональная терапия глюкокортикоидами, широко используемая в перинатологии для купирования дистресс-синдрома, способна долговременно и даже перманентно менять функцию центральных медиаторных систем. Одной из наиболее экспансивных, модулирующих базальную и стрессорную активность мозга, и регулирующих многообразные формы поведения, в том числе при патологии, является норадренергическая нейрхимическая система. Нашими исследованиями установлены критические периоды чувствительности медиаторной системы мозга крыс к действию гормонов стресса. Этот период охватывает конец пренатального онтогенеза и первые дни после рождения. Индукция глюкокортикоидами гена и белка ключевого фермента синтеза норадреналина – тирозингидроксилазы (ТГ) в мозге 20-21-дневных плодов и неонатальных крысят в результате активации неканонического механизма действия гормона через AP-1 элемент промотора, вызывает долговременное повышение экспрессии гена, сохраняясь у взрослых животных. Длительная активация медиаторной системы показана и в результате ген-направленного подавления экспрессии основных ауторецепторов норадреналина – альфа2А-подтипа в стволе мозга крысят первой недели жизни, которая сохраняется, по крайней мере, до полуторамесячного возраста. Изменение нейрхимического профиля перинатальными гормональными воздействиями сопровождается нарушениями поведения и адренкортикальной реакции на эмоциональный стресс. Взрослые животные после однократного введения синтетического гормона – дексаметазона демонстрируют признаки гиперактивности, снижение тревожности и проявлений депрессивно-подобного поведения, в том числе на фоне незначительного, но хронического непредсказуемого стресса. Долговременную модификацию норадренергической системы мозга, меняющую функцию медиаторной системы и регуляцию поведения, необходимо учитывать при назначении перинатальной гормональной терапии.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 18-315-20028 и 19-015-00525, а также бюджетного проекта 0324-2019-0041.

## ПРЕНАТАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ И СОВРЕМЕННОЕ ОБЩЕСТВО

Кащеева Т.К.

ФГБНУ «НИИАГиР им.Д.О.Отта», Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская л., д.3  
[tkklpd@mail.ru](mailto:tkklpd@mail.ru)

Пренатальный скрининг для формирования группы беременных с высоким риском хромосомной патологии (ХП) у плода проводится уже более 30 лет и за это время, естественно, совершенствовался и модернизировался. От биохимического скрининга во 2-м триместре беременности и корректировки срока беременности по данным УЗИ пришли с помощью сложного математического аппарата к комбинированному расчету индивидуального риска ХП, учитывающего анамнестические данные, ультразвуковые параметры плода, концентрацию биохимических маркеров в крови женщины и нормативные распределения определяемых величин. Комбинированный ультразвуковой и биохимический скрининг в 1-м триместре беременности проводился в Санкт-Петербурге с 2005 года, а в масштабах страны ранний пренатальный скрининг (РПС) был внедрен в 2011 году и продемонстрировал существенное повышение эффективности выявления ХП. За последние несколько лет произошло существенное изменение в общественном сознании в связи с появлением современных технологий исследования фетальной ДНК в крови матери и перспектив определения риска наиболее частых ХП неинвазивными методами. Обсуждаются последние достижения в этой области и связанные с ними модификации пренатального скрининга в странах Европы и в нашей стране.

## ГЕНЕТИКА И СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ МИГРЕНИ: ЧТО МЫ ЗНАЕМ СЕГОДНЯ?

Климов Е.А.<sup>1,2</sup>, Наумова Е.А.<sup>1</sup>, Кокаева З.Г.<sup>1</sup>, Зайцева А.И.<sup>1</sup>, Рудько О.И.<sup>1</sup>, Соболев В.В.<sup>3</sup>, Скоробогатых К.В.<sup>4</sup>, Сергеев А.В.<sup>5</sup>, Азимова Ю.Э.<sup>4,6</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Российская Федерация, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12; <sup>2</sup> ФГБНУ «Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий», Российская Федерация, 127422, Москва, ул. Костякова, д. 12, стр.4; <sup>3</sup> ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской Академии Наук», Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Косыгина, д. 4; <sup>4</sup> ООО «Университетская клиника головной боли». 121467, Россия, Москва, ул. Молодогвардейская, д. 2, корп. 1; <sup>5</sup> ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; <sup>6</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, д. 8

[klimov\\_eugeney@mail.ru](mailto:klimov_eugeney@mail.ru)

По данным ВОЗ мигрень является одной из ведущих причин потери трудоспособности (9 место, среди женщин – 3 место). Распространённость мигрени в мире за 1 год среди взрослого населения составляет в среднем от 10-15%. В России цифры распространённости мигрени выше – 20.3%, а ежегодные косвенные расходы по причине первичных головных болей составляют более 1.5 трлн. руб. [1]. Таким образом, мигрень является не только медицинской, но и экономической проблемой. При этом диагноз «мигрень» до сих пор является исключительно клиническим, и любые диагностические тесты направлены лишь на исключение других причин головной боли [2].

Цель работы – системное исследование молекулярно-генетических механизмов патогенеза мигрени. Задачи: 1) провести глубокий анализ литературы по генетике мигрени, 2) смоделировать молекулярные сигнальные пути патогенеза, 3) провести ассоциативные исследования с участием ключевых генов, 4) оценить роль исследуемых генов в формировании клинических характеристик заболевания.

Методы и пациенты. Анализ литературных источников проводили с использованием сервиса TargetInsight (<https://demo.elseviertextmining.com/>). Построение схем сигнальных путей проводили в программе Pathway Studio 9 (Elsevier). Поиск ассоциаций с выбранными генами (33 гена, 31 SNP) осуществляли методом ПЦР-ПДРФ, аллель-специфичной ПЦР, ПЦР в реальном времени. В исследование включено 146 пациентов с клинически подтверждённым диагнозом «мигрень» и 365 необследованных человек контрольной выборки (популяционный контроль).

Результаты. Проанализированы описанные в литературе данные о связанных с мигренью полиморфных вариантов генов [3] и белках с изменённой экспрессией. Построены схемы сигнальных путей наследственных форм мигрени (гемиплегическая мигрень) и гипотетические схемы сигнальных путей патогенеза «классической» мигрени. Показана ассоциация исследуемых генов с мигренью (двусторонний критерий Фишера,  $p < 0.05$ ): *ACE* (rs4646994), *CCKBR* (rs1805000), *COMT* (rs4680), *MIR22* (rs6502892), *MTHFD1* (rs2236225), *MTHFR* (rs1801133, rs1801131), *NOS3* (rs2070744), *SHMT1* (rs1979277). Выявлены комплексные генотипы исследованных генов, ассоциированные с мигренью. Показана связь замен в исследованных генах с формированием клинической картины мигрени.

Таким образом, наше исследование позволило выявить ключевые белки патогенеза мигрени и оценить роль полиморфных вариантов кодирующих их генов в развитии заболевания и формировании его клинической картины.

1. Ayzenberg I. et al., Headache-attributed burden and its impact on productivity and quality of life in Russia: structured healthcare for headache is urgently needed. // 2014, Eur. J. Neurol., V.21, №5, P.758-765.
2. Осипова В.В. и др., Диагностика головных болей в России и странах постсоветского пространства: состояние проблемы и пути ее решения. // 2012, Анналы клинической и экспериментальной неврологии, Т.6, №2, С.16-21.
3. Kondratieva N. et al., Biomarkers of migraine: Part 1 – Genetic markers. // 2016, J. Neurol. Sci., V.369, P.63-76.

## АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ПОЛИМОРФНОЙ ФОРМЫ ИНОЗИН ТРИФОСФАТ ПИРОФОСФОГИДРОЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА ИТРА-P32T

Колтовая Н.А., Душанов Э.В.

Объединенный институт ядерных исследований,

Россия, г. Дубна, ул. Жолио-Кюри, 6

[koltovaya@jinr.ru](mailto:koltovaya@jinr.ru)

Фермент инозин трифосфат пирофосфогидролаза (ИТРА) участвует в метаболизме пуринов. Дефицит ИТРА сопровождается повышением уровня ИТР и генетической нестабильности. У человека наблюдается снижение активности ИТРА в случае некоторых заболеваний. Кроме того, возрастает количество данных, указывающих на то, что полиморфизм ИТРА является важным фармакологическим фенотипом, определяющим чувствительность к некоторым лекарствам [1]. Аллель P32T имеет наиболее сильный эффект, но механизм инактивации фермента не известен. Основываясь на данных кристаллографии, было выдвинуто предположение о кардинальной роли положения мутантной петли, содержащей замену P32T [2]. Эта замена ведет к выпячиванию наружу из гидрофобного кармана соседнего гидрофобного основания Phe31, что служит маркером протеасомной деградации белка.

Поскольку структура белка в растворе может отличаться от кристаллизованной, то для проверки выдвинутой гипотезы мы использовали компьютерное моделирование. Пирофосфатаза представляет собой гомодимер. В работе симулировали четыре структуры гомо- и гетеродимеров (дикий и мутантный гомодимеры, и два гетеродимера) в окружении воды при 300°K. Анализировали модели в течение 20 нс с шагом 0.1 фс.

Было показано, что модельная структура отличается от кристаллической. Остаток Phe31 не выходил за пределы гидрофобного кармана, что подтвердило измерение торсионных углов. Сравнение четырех моделей показало, что для субъединиц смещение атомов (RMSD) не отличались, но для димеров наблюдались отличия, т.е., по-видимому, касались взаимодействия между субъединицами. Действительно, у мутантного гомодимера было снижено количество водородных связей по сравнению с гомодимером дикого типа. У гетеродимеров количество водородных связей занимало промежуточное положение. Изменилось и положение ИТР. Полученные данные подтверждают скорее предположение, выдвинутое в работе [3] о передаче сдвига мутантной петли через соседние петли к сайту связывания нуклеотида и сайту связывания субъединиц.

[1] Bierau J., et al., Pharmacogenetic significance of inosine triphosphatase. // 2007, Pharmacogenomics, V.8, P.1221-1228.

[2] Simone P.D., et al., The human ИТРА polymorphic variant P32T is destabilized by the unpacking of the hydrophobic core. // 2013, J. Struct. Biol., V.182, P.197-208.

[3] Stenmark P., et al., Crystal structure of human inosine triphosphatase. Substitute binding and implication of the inosine triphosphatase deficiency mutation P32T. // 2007, J. Biol. Chem., V.282, P.3182-3187.

## АССОЦИАЦИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *TP53* С ДЛИТЕЛЬНОЙ ПЕРСИСТЕНЦИЕЙ ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Машкина Е.В., Гарбузова О.А., Коваленко К.А., Букреева А.В.

Южный федеральный университет, Россия, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

lenmash@mail.ru

Особенности генотипа человека по полиморфным вариантам генов контроля клеточного цикла, апоптоза и репарации могут влиять на характер течения папилломо-вирусной инфекции, которая является одним из основных этиологических факторов развития рака шейки матки. Основной пик инфицирования вирусом приходится на женщин молодого, сексуально активного возраста. Среди женщин старше 30 лет уменьшается частота выявления вируса папилломы человека (ВПЧ), однако у некоторых лиц вирус сохраняется и активно размножается. Длительная персистенция ВПЧ может быть связана с особенностями функционирования системы контроля клеточного цикла, репарации, а также иммунной системы человека. Транскрипционный фактор p53 является основным онкосупрессором, который регулирует клеточный цикл и запускает механизмы апоптоза.

Целью данной работы было изучить ассоциацию полиморфизма *Pro72Arg* гена *TP53* с длительной персистенцией ВПЧ. Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенной из эпителиальных клеток урогенитального тракта 228 женщин в возрасте старше 30 лет. Среди них – 74 женщины, инфицированные ВПЧ (с вирусной нагрузкой более 4 Ig) и 154 женщины – не инфицированных ВПЧ.

В исследуемых группах женщин распределение частот генотипов и аллелей по полиморфизму *Pro72Arg* гена *TP53* статистически значимо отличается ( $p=0,02$  и  $p=0,005$  соответственно). В исследуемых группах преобладают гомозиготы по аллели *72Arg*. Среди инфицированных ВПЧ женщин частота генотипа *Arg/Arg* составила 67,6%, а среди неинфицированных женщин – 44,2%. На долю гетерозигот в группе инфицированных женщин приходится 31,1 %, а в группе женщин без вируса – 46,8 %. Частота встречаемости генотипа *Pro/Pro* в контрольной группе составила 9%, а в группе женщин с высокой концентрацией ВПЧ – 1,4%. Генотип *ArgArg* гена *TP53* ассоциирован с повышенным относительным риском формирования высокой вирусной нагрузки (OR = 2,63 95% CI 1,47-4,69), так же как и аллель *72Arg* (OR = 2,36 95% CI 1,44-3,85). Для 82% образцов ДНК, являющихся гомо- или гетерозиготными по исследуемому полиморфизму гена *TP53* выявлена интеграция онкогена E6 вируса в геном человека. По данным литературы известно, что вариант белка p53, кодируемый аллелью *72Arg* гена *TP53*, разрушается белком E6 ВПЧ с большей скоростью по сравнению с изоформой белка p53, имеющей пролин в 72 положении. Таким образом, аллельное состояние гена *TP53* может оказывать влияние на эффективность процессов активации апоптоза при папилломовирусной инфекции.

## ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ ВРОЖДЕННЫХ РАСЩЕЛИН ГУБЫ И НЕБА В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ

Удина И.Г.<sup>1</sup>, Учаева В.С.<sup>1</sup>, Васильев Ю.А.<sup>2</sup>, Грачева А.С.<sup>1</sup>, Победоносцева Е.Ю.<sup>1</sup>,  
Гуленко О.В.<sup>2</sup>, Курбатова О.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики  
им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, 119991, Москва, ул. Губкина, д. 3

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего  
образования “Кубанский Государственный Медицинский Университет” Министерства  
здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, ул. Седина, д.4

[irina\\_udina@mail.ru](mailto:irina_udina@mail.ru)

На базе Кубанского государственного медицинского университета изучена динамика частот встречаемости изолированных врожденных расщелин губы и/или неба (ВРГ, ВРН и ВРГН) в Краснодарском крае за период более 25 лет. С целью выявления роли загрязнения окружающей среды в этиологии ВРГ, ВРН и ВРГН проведен анализ распределения частот их встречаемости в районах Краснодарского: установлена статистически достоверная связь ( $r = 0,97$ ;  $p = 0,03$ ) между частотой ВРГ, ВРН и ВРГН и интегральным показателем загрязнения окружающей среды. У детей с ВРГ, ВРН и ВРГН изучены особенности распространения SNP C677T и A1298C гена *MTHFR*: не выявлена их ассоциация с формированием ВРГ, ВРН и ВРГН. Для SNP C677T гена *MTHFR* у матерей установлена ассоциация с рождением детей с врожденными расщелинами: генотип T/T сопряжен с повышенным риском рождения детей с ВРГ, ВРН и ВРГН по сравнению с генотипами C/C+C/T:  $OR=16,63$ , 95%  $CI: 3,86 - 71,71$ ;  $p = 0,0003$ , а также генотипы T/T+C/T — по сравнению с генотипами C/C:  $OR=3,22$ ,  $CI: 1,71 - 6,08$ ;  $p = 0,0002$ . У детей с ВРГ, ВРН и ВРГН установлены высокие показатели распространенности и интенсивности кариеса, превосходящие показатели в контроле на 18 - 21%, выявлен низкий уровень гигиены полости рта. Изучена эффективность пренатального выявления врожденных расщелин с помощью УЗИ у матерей (N=358), родивших детей с патологией в Краснодарском крае за период 2012-2014гг. Пренатальное 2D УЗИ исследование проводят три раза в течение беременности: на 12, 18-24 и 32-34 неделях. Расщелины губы и неба выявлены на втором и третьем УЗИ: расщелины губы выявлены в 33,8% случаев, а расщелины неба — всего в 5,6% случаев. Выявление патологии пренатально важно для подготовки родителей к проведению реабилитации больных детей. Зачастую плоды с расщелиной губы и неба имеют сопутствующую патологию других органов, что важно для дальнейшей реабилитации или для принятия решения о прерывании беременности. Выявление врожденных расщелин на ранних сроках в отдельных странах приводит к высокому проценту прерывания беременности. Подобные данные ставят вопрос об этических аспектах проблемы. Для наиболее эффективного выявления ВРГ, ВРН и ВРГН необходимо проведение 3D УЗИ. Полученные данные предполагают возможность профилактики ВРГ, ВРН и ВРГН и кариеса у детей с ВРГ, ВРН и ВРГН. Работа выполнена по теме госзадания ИОГен РАН №0112-2016-0002 «Исследование генофондов и популяционно-генетическая структура животных, растений и человека» и гранта РФФИ № p\_a 16-44-230646.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ СПАСТИЧЕСКИХ ПАРАПЛЕГИЙ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Хидиятова И.М.<sup>1,2</sup>, Ахметгалеева А.Ф.<sup>3</sup>, Сайфуллина Е.В.<sup>3</sup>, Идрисова Р.Ф.<sup>3</sup>,  
Шавалиева В.В.<sup>2</sup>, Магжанов Р.В.<sup>3</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук; Россия; г.Уфа, Пр. Октября, 71;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет», Россия;

г.Уфа, ул. З. Валиди, 32; <sup>3</sup>Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития; Россия; г. Уфа, ул. Ленина, 3.

[imkhid@mail.ru](mailto:imkhid@mail.ru)

Наследственные спастические параплегии (НСП) – группа клинически и генетически гетерогенных нейродегенеративных заболеваний, характеризующихся прогрессирующей спастичностью и гиперрефлексией нижних конечностей. В настоящее время известно более 70 генных локусов (идентифицировано 59 генов), связанных с различными формами НСП, и поиск новых генетических факторов развития заболевания продолжается. Актуальными являются и проблемы клинико-генетической корреляции при НСП, и популяционной неоднородности распространенности заболевания в целом и его отдельных форм.

В 63 –х неродственных семьях пациентов с НСП из Республики Башкортостан (РБ) был проведен анализ генов спастина (*SPAST*), атластина (*ATLI*), белков REEP1 (*REEP1*) и NIPA1 (*NIPA1*) с использованием методов SSCP-анализа, прямого секвенирования (ряда экзонов гена *SPAST*), MLPA –анализа (генов *SPAST* и *ATLI*). У шести пациентов с не выявленными мутациями в этих генах было проведено таргетное секвенирование экзона, включающее анализ более 700 генов, ответственных за развитие нейродегенеративных заболеваний. В гене *SPAST* было идентифицировано наибольшее количество мутаций: делеция 1-го экзона (del 1 ex), дупликация 1-го экзона (dup 1 ex), три микроделеции - с.322del29 (p.Val108Serfs 18), с.885del10 (p.Thr295Thrfs 16), с.283delG (p.Ala95Profs 66), инсерция с.1328\_1329insT (p.Val443Val 1) и миссенс - мутация с.1114A>G (p.Arg372Gly). Делеция с.283delG (p.Ala95Profs 66) оказалась наиболее частой мутацией: в общей выборке неродственных больных из РБ ее частота составила 19,04%, а в выборке пациентов- татар – 44,4%. Общий вклад формы SPG4, обусловленной мутациями в гене *SPAST*, в общую структуру НСП в РБ составил 33,3%. В гене *ATLI* идентифицирована дупликация третьего экзона (dup 3 ex) (1,6%) и миссенс-мутация с.1246C>T (p.Arg416Cys) (4,8%); в гене *REEP1* обнаружены ранее не описанная нонсенс-мутация с.225G>A (p.Trp75) (1,6%) и известная мутация с.606+43G>T в 3'-НТО (1,6%). Впервые у пациентов с аутосомно-доминантной спастической параплегией была идентифицирована ранее не описанная нуклеотидная замена в гене тубулина-бета 2А (*TUBB2A*) - с.1249G>T (p.Asp417Tyr)(1,6%), расцененная, предварительно, как патогенный миссенс-вариант. В гене *NIPA1* у пациентов с НСП патогенных мутаций не обнаружено. В целом, генетическая причина развития заболевания была установлена в 44,4% неродственных семей. У пациентов с выявленными мутациями определены клинические особенности НСП.

Исследование поддержано грантом РФФИ р\_а №17-44-020951.

## ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИОННОГО ПРОФИЛЯ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Алиева А.Х.<sup>1</sup>, Руденок М.М.<sup>1</sup>, Колачева А.А.<sup>2</sup>, Угюмов М.В.<sup>2</sup>, Сломинский П.А.<sup>1</sup>, Шадрина М.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Россия, г. Москва, пл. Ак. Курчатова, д.2, 123182

<sup>2</sup> ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, д. 26, 119334

[anelja.a@gmail.com](mailto:anelja.a@gmail.com)

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний и характеризуется дегенерацией дофаминергических нейронов. Нейродегенерация при БП носит медленный и прогрессирующий характер: от начала развития патологических процессов до проявления двигательных симптомов может пройти около 20 лет. Несмотря на интенсивные исследования, механизмы, инициирующие нейродегенерацию при БП, остаются мало изученными. Одним из основных подходов к их изучению является исследование моделей, воспроизводящих самые ранние этапы БП.

Был проведен полнотранскриптомный анализ тканей черной субстанции и стриатума мозга мышей с МФТП-индуцированными моделями досимптомных и ранней симптомной стадий БП, который выявил минимальный ответ на уровне транскриптома на самых ранних стадиях моделируемого патогенеза БП. Основные изменения при развитии патологических процессов начинаются в стриатуме и затрагивают эту структуру в большей степени, чем черную субстанцию на всех проанализированных стадиях. При этом было показано, что на самых ранних досимптомных стадиях наблюдается преимущественно увеличение экспрессии генов, что указывает на развитие компенсаторных механизмов. Результаты анализа говорят о сложной картине нейродегенерации и о независимой роли этих тканей в формировании ответа на развитие патологических процессов при БП в исследуемых моделях.

Биоинформатический анализ позволил выявить процессы, связанные с функционированием митохондрий, апоптоза и убиквитин-зависимого протеолиза, для которых уже доказана их роль в патогенезе БП. Также были выявлены процессы, связанные с функционированием транспорта, РНК-сплайсингом и миелинизацией, изменение функционирования которых также может иметь важное значение в патогенезе ранних стадий БП.

Был проведен детальный анализ экспрессии гена *VCP*, связанного с функционированием транспорта и митохондрий. Были выявлены выраженные изменения экспрессии этого гена как на уровне белка, так на уровне мРНК в тканях мозга и периферической крови мышей при моделировании БП. Также было показано специфичное для БП падение уровней мРНК *Vcp* в группе пациентов с БП, не подвергавшихся лечению, и в группе пациентов с вероятной БП. В целом, все полученные данные подчеркивают важную роль *VCP* в патогенезе БП и указывают на то, что уровни мРНК данного гена можно рассматривать как потенциальный биомаркер ранних стадий БП.

Работа проведена при поддержке Российского научного фонда (№17-75-10119).

## СРЕДОВЫЕ ЭФФЕКТЫ НА АССОЦИИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ СИСТЕМ РЕПАРАЦИИ ДНК С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ.

Бабушкина Н.П., Постригань А.Е., Хитринская Е.Ю., Кучер А.Н.

НИИ медицинской генетики ФГБУ Томский НИМЦ РАН, Россия, Томск  
[nad.babushkina@medgenetics.ru](mailto:nad.babushkina@medgenetics.ru)

Бронхиальная астма (БА) – клинически гетерогенное многофакторное заболевание с существенной генетической компонентой, которая не раскрыта в полном объеме.

Цель исследования заключалась в поиске ассоциаций с бронхиальной астмой полиморфных вариантов в генах белков различных репарационных систем ДНК, продукты которых вовлечены (в том числе) в развитии специфического иммунного ответа, что позволяет предполагать их вовлеченность в формировании атопии.

Проанализированы 9 SNP: rs560191 (*TP53BP1*), rs1805800 и rs709816 (*NBS1*), rs473297 (*MRE11A*), rs1189037 и rs1801516 (*ATM*), rs1799977 (*MLH1*), rs1805321 (*PMS2*), rs25487 (*XRCC1*). Исследованы группа больных БА и популяционная выборка г. Томска (134 и 328 человек соответственно; более 95% обследованных являются русскими). Генотипирование проводили с помощью SNaPshot-анализа на платформе ABI Genetic Analyzer 3730 на базе Центра коллективного пользования научно-исследовательским оборудованием и экспериментальным биологическим материалом «Медицинская геномика» НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ РАН. Статистическая обработка данных проведена с использованием общепринятых методов анализа ( $\chi^2$ , OR с 95% CI); статистически значимым считались различия при  $p < 0,05$ .

Статистически значимые различия зарегистрированы по частотам аллелей и генотипов rs1189037 в гене *ATM* ( $p=0,010$  и  $p=0,033$ , соответственно) и rs1799977 в гене *MLH1* ( $p=0,006$  и  $p=0,011$ , соответственно). Рискорый эффект rs1189037 G (OR=2,13 (CI: 1,45–3,12),  $p=0,00007$ ) и rs1189037 GG (OR=1,67 (CI: 1,01–2,76),  $p=0,045$ ), а также – протективный эффект rs1189037 AA (OR=0,37 (CI: 0,18–0,75),  $p=0,0041$ ) проявляется только при наличии курения и паразитарной инвазии. Паразитарная инвазия также усиливает рискорый эффект rs1799977 A (от OR=1,60 (CI: 1,14–2,26),  $p=0,006$  в группе БА, до OR=2,49 (CI: 1,33–4,75),  $p=0,003$  при сопутствующем паразитозе) и rs1799977 AA (от OR=1,68 (CI: 1,09–2,59),  $p=0,018$  до OR=3,00 (CI: 1,43–6,73),  $p=0,002$ , соответственно)

Таким образом, впервые показана ассоциированность полиморфных вариантов генов репарационных систем ДНК (*ATM* и *MLH1*) с бронхиальной астмой, воздействие средовых факторов значительно модифицирует проявление ассоциаций. Это свидетельствует о необходимости привлечения генов данного функционального класса в исследования генетической компоненты многофакторных болезней.

## АУТОСОМНО-РЕЦЕССИВНАЯ КАТАРАКТА (СТРСТ18) В ЯКУТИИ: РЕЗУЛЬТАТЫ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ И РЕКОНСТРУКЦИЯ ГАПЛОТИПА-ОСНОВАТЕЛЯ С МУТАЦИЕЙ с.1621C>T (p.Gln541 ) ГЕНА *FYCO1*

Барашков Н.А.,<sup>1,2</sup> Коновалов Ф.А.,<sup>3,4</sup> Соловьев А.В.,<sup>1,2</sup> Терютин Ф.М.,<sup>1,2</sup> Пшенникова В.Г.,<sup>1,2</sup> Сапожникова Н.В.,<sup>5</sup> Вычюжина Л.С.,<sup>6</sup> Романов Г.П.,<sup>1,2</sup> Готовцев Н.Н.,<sup>1,2</sup> Бурцева Т.Е.,<sup>1,2</sup> Платонов Ф.А.,<sup>2</sup> Томский М.И.,<sup>1</sup> Джемилева Л.У.,<sup>7,8</sup> Хуснутдинова Э.К.,<sup>7,9</sup> Посух О.Л.,<sup>10,11</sup> Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> – Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Россия, г. Якутск;

<sup>2</sup> – Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Россия, г. Якутск;

<sup>3</sup> – Медико-генетический научный центр, Россия, г. Москва; <sup>4</sup> – Геномед, Россия, г. Москва,;

<sup>5</sup> – Республиканская школа-интернат для слепых и слабовидящих детей, Россия, г. Якутск;

<sup>6</sup> – Республиканская больница №1 – Национальный центр медицины, Россия, г. Якутск,; <sup>7</sup> –

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Россия, г. Уфа; <sup>8</sup> – Башкирский государственный медицинский университет, Россия, г. Уфа; <sup>9</sup> – Башкирский государственный университет, Россия, г. Уфа; <sup>10</sup> – Федеральный исследовательский центр

Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, г. Новосибирск; <sup>11</sup> – Новосибирский государственный университет, Россия, г. Новосибирск.

[barashkov2004@mail.ru](mailto:barashkov2004@mail.ru)

Врожденная катаракта (ВК) – основная причина детской слепоты во многих популяциях мира. В Якутии ВК является одним из наиболее частых моногенных заболеваний с неустановленной генетической природой. Для поиска молекулярно-генетических причин этого заболевания было проведено полноэкзомное секвенирование (Illumina NextSeq 500) у одного пациента с ВК из якутской семьи, в которой, помимо обследуемого, было еще два пораженных сибса, а родители имели сохранное зрение. Полноэкзомный анализ выявил у этого пациента новую гомозиготную транзицию с.1621C>T в 8-ом экзоне гена *FYCO1* (локус SATC2, СТРСТ18, OMIM 610019), ранее известного в ассоциации с ВК. Замена с.1621C>T приводит к образованию преждевременного стоп-кодона p.Gln541, терминирующего трансляцию белка *FYCO1* (FYVE and coiled-coil domain containing 1 protein), выполняющего ключевую транспортную роль при процессах аутофагии в клетках хрусталика. В настоящее время сведения о транзиции с.1621C>T отсутствуют в базах данных 1000 Genomes, ESP6500 и ExAC. Секвенирование по Сэнгеру подтвердило сегрегацию гомозиготности по с.1621C>T с ВК в якутской семье: все пораженные сибсы были гомозиготами, а их здоровые родители – гетерозиготами по этому варианту. Результаты полноэкзомного секвенирования в обследованной семье и последующий скрининг варианта с.1621C>T у других пациентов с ВК в Якутии показали, что, в целом, вклад гомозиготной транзиции с.1621C>T (p.Gln541) в этиологию ВК составил 87.5%, с очагами накопления в центральных районах Якутии. Учитывая весомый вклад обнаруженной мутации в этиологию ВК в Якутии, был проведен анализ гаплотипов, полученных в результате генотипирования 6 STR-маркеров (D3S3512, D3S3685, D3S3582, D3S3561, D3S1289 и D3S3698), фланкирующих ген *FYCO1*, у 25 пациентов, гомозиготных по мутации с.1621C>T (p.Gln541), и 114 человек без данной мутации. В целом, реконструкция мутантных гаплотипов, проведенная по 6 STR-маркерам, свидетельствует о том, что экспансия носителей с.1621C>T (p.Gln541) на территории Якутии произошла в результате эффекта основателя около 260±65 лет назад (10.4±2.6 поколений) ~ в середине XVIII в.

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства образования и науки РФ №6.1766.2017 ПЧ и гранта РФФИ №18-05-60035\_Арктика.

## СПЕКТР МУТАЦИЙ В ГЕНЕ РСДН19, ВЫЯВЛЯЕМЫХ ПРИ ЭКЗОМНОМ СЕКВЕНИРОВАНИИ, И КЛИНИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯЦИИ

Барышникова Н.В.<sup>1,2</sup>, Окунева Е.Г.<sup>1</sup>, Козина А.А.<sup>1,2,3</sup>, Федонюк И.Д.<sup>4</sup>, Красненко А.Ю.<sup>1</sup>, Цуканов К.Ю.<sup>1</sup>, Шаталов П.А.<sup>1,2</sup>, Суркова Е.И.<sup>1</sup>, Ильинский В.В.<sup>1,3,5</sup>

<sup>1</sup>ООО «Генотек», г.Москва, Наставнический переулок, д.17/1; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Москва, ул.Островитянова, д.1; <sup>3</sup>Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, г. Москва, ул. Погодинская, д.10, стр.8, <sup>4</sup>Российская детская клиническая больница, ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, г.Москва, Ленинский проспект, д.117; <sup>5</sup>Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова, г.Москва, ул. Губкина, д.3  
[nbaryshnik73@yandex.ru](mailto:nbaryshnik73@yandex.ru)

Мутации в гене РСДН19, расположенном в Xq22, приводят к развитию эпилепсии разной степени тяжести с умственной отсталостью или без неё, и нарушениями аутистического спектра (ОММ:300088). Мутации этого гена встречаются примерно у 10% пациентов женского пола с эпилепсией. В большинстве случаев заболевание развивается вследствие мутации de novo, но описаны случаи передачи как от незатронутых отцов, так и от пораженных матерей. Изначально эта форма эпилепсии была описана как «эпилепсия и умственная отсталость, ограниченные женщинами» (EFMR). К настоящему времени имеются данные, что клиническая картина заболевания может развиваться у пациентов мужского пола в случае соматического мозаицизма. В России описано два случая эпилепсии, обусловленной мутациями в гене РСДН19 [1].

В гене РСДН19 нами обнаружено 15 патогенных и вероятно патогенных вариантов у 28 (24 пациента женского пола и 4 мужского) из 3000 обследованных с различными направляющими диагнозами. Миссенс-мутации были обнаружены в 1,3, 5 и 6 экзонах и составили 80% от выявленных мутаций (12 мутаций у 25 человек), 2 мутации (в 1 и 3 экзонах) приводили к сдвигу рамки считывания и преждевременной остановке синтеза белка, и 1 мутация (в 1 экзоне) – к преждевременному стоп-кодону. В 1-ом экзоне нами обнаружено 46,7% мутаций (7 из 15) у 11 обследованных (2-х пациентов мужского пола и 9 женского). Две мутации с.695A>G (p.Asn232Ser) и с.1183C>T (p.Arg395) описанные, как приводящие к развитию эпилепсии разной степени тяжести с умственной отсталостью у девочек, выявлены нами у пациенток с соответствующими направляющими диагнозами. Клиническая картина и набор противосудорожных препаратов в этих двух случаях соответствуют литературным данным [2]. Мутация с.769G>A (p.Val257Ile), описанная ранее [3], обнаружена у 5 пациентов (в т.ч. у одного мальчика с задержкой психо-речевого и моторного развития) и требует дальнейшего изучения. Две не описанные в известных базах данных мутации можно считать патогенными: с.478delA (p.Ser160fs), обнаруженную у мальчика без клинических признаков данного заболевания, и с.1552C>G (p.Leu518Val) выявленную у девочки 16 лет с отставанием психического развития. В 6 экзоне выявлено 4 генетических варианта у 13 обследованных, среди которых 4 девочки с диагнозом эпилепсия и с вероятно патогенными мутациями в других генах, и 2 мальчика. Это затрудняет оценку роли этих мутаций. Возможно мутациям в гене РСДН19 характерен более широкий спектр клинических проявлений, различающихся по тяжести.

[1] К.Ю. Мухин, О.А. Пылаева, А.Ф. Долинина и др. Эпилепсия, вызванная мутацией гена РСДН19: обзор литературы и собственные наблюдения.//2016, Русский журнал детской неврологии, Т.11 / Vol. 11, №2, стр. 26 - 32

- [2] Marini C, Darra F, Specchio N, et al. Focal seizures with affective symptoms are a major feature of PCDH19 gene-related epilepsy //Epilepsia. 2012 Dec;53(12):2111-9. doi: 10.1111/j.1528-1167.2012.03649.x. Epub 2012 Sep 4.
- [3]. van Harssel, J.J., Weckhuysen, S., van Kempen, M.J. et al. Clinical and genetic aspects of PCDH19-related epilepsy syndromes and the possible role of PCDH19 mutations in males with autism spectrum disorders.// 2013, Neurogenetics,14(1):23-34.

## ЕДИНООБРАЗИЕ СООТНОШЕНИЯ ТИПОВ НАРУШЕНИЙ ГЕНА *PAX6* У БОЛЬНЫХ АНИРИДИЕЙ В РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ МИРА

Васильева Т.А.<sup>1</sup>, Кадышев В.В.<sup>1</sup>, Воскресенская А.А.<sup>2</sup>, Марахонов А.В.<sup>1,3</sup>, Зинченко Р.А.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», Россия, 115522, г. Москва, ул. Москворечье, д.1;

<sup>2</sup> Чебоксарский филиал Федерального государственного автономного учреждения «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 428028, г. Чебоксары, пр. Тракторостроителей, д. 10;

<sup>3</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», Россия, 690091, г. Владивосток, ул. Суханова, 8 Владивосток

<sup>4</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, дом 1  
[vasilyeva\\_debrie@mail.ru](mailto:vasilyeva_debrie@mail.ru)

Сохранение соотношения типов мутаций при доминантных заболеваниях в разных популяциях может объясняться существованием общих механизмов возникновения генетических нарушений, лежащих в их основе. Врожденная аниридия (ВА) (OMIM#106210) — редкий моногенный порок развития глаз с аутосомно-доминантным типом наследования. Значительная часть случаев ВА обусловлена *de novo* мутациями гена *PAX6*, большинство из которых — нонсенс-замены в «горячих» точках, малые делеции/инсерции или крупные хромосомные перестройки региона 11p13. Анализ спектра мутаций в обширной когорте больных с ВА из России позволил провести сравнение частот разных типов мутаций гена *PAX6* и делеций 11p13 с выборками из мировых популяций и подтвердить их ожидаемое сходство.

В исследование включены 195 больных из 163 неродственных семей: 184 пациента из 152 неродственных семей с диагнозом ВА и 11 из 11 семей — с диагнозом синдрома WAGR, которым проведены MLPA анализ региона 11p13 и секвенирование по Сэнгеру гена *PAX6*. Для статистического анализа использован критерий  $\chi^2$ .

У 181 больного из 149 неродственных семей с ВА (112 единичных и 37 семейных случаев) определены: внутригенные мутации — у 107 пробандов, хромосомные делеции — у 42. Во всех 11 случаях синдрома WAGR определены хромосомные делеции, включающие гены *PAX6* и *WT1*. В 3 случаях причина ВА не установлена. Из выявленных у 107 пробандов малых мутаций 49 новых и 32 ранее описанных (81 вариант). У 37/107 пробандов определены 10 повторяющихся вариантов: 8 частых во всех популяциях и 2 — только в России. Среди хромосомных делеций обнаружена одна частая для России (17 пробандов).

При всем своеобразии спектра, в данной выборке, как и повсюду, мутации, приводящие к потере функции одного аллеля гена *PAX6*: нонсенс, сдвига рамки, хромосомные делеции и изменения старт кодона, сплайсинга — обнаружены у подавляющего большинства пробандов (150/163). Сравнение спектров по типам мутаций проведено для трех исследований с количеством обследованных семей более 50 (из России, Великобритании и США) и для 5 исследований с меньшим количеством пациентов (17 < N < 30) (из Франции, Великобритании, Австралии, Индии и Кореи). Относительное количество разных типов идентифицированных в России мутаций соответствует данным, полученным другими исследователями, что свидетельствует о единстве молекулярных механизмов генетических нарушений, вызывающих ВА.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проект № 19-015-00122).

## ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ДОКСОРУБИЦИНУ ИНФИЦИРОВАННЫХ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСОМ КЛЕТОК МОНОЦИТАРНОЙ ЛЕЙКЕМИИ ТНР-1 ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ИНГИБИТОРА ПОЛИАМИНОВОГО КАТАБОЛИЗМА MDL 72527

Виноградская Г.Р.<sup>1</sup>, Федорова Н.Е.<sup>2</sup>, Чернорыж Я.Ю.<sup>2</sup>, Емельянова С.С.<sup>1</sup>, Завалишина Л.Е.<sup>3</sup>, Юрлов К.И.<sup>2</sup>, Закирова Н.Ф.<sup>4</sup>, Вербенко В.Н.<sup>1</sup>, Кочетков С.Н.<sup>4</sup>, Куш А.А.<sup>2</sup>, Иванов А.В.<sup>4</sup>

*1 Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Ленинградская обл., 188300*

*2 Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Министерства здравоохранения РФ, Москва, 123098*

*3 Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения РФ, Москва, 125993*

*4 Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, 119991*  
[vinogradskaya\\_gr@pnpi.nrcki.ru](mailto:vinogradskaya_gr@pnpi.nrcki.ru)

Лейкемические клетки от разных пациентов проявляют разную чувствительность к противораковым препаратам, в том числе к доксорубину (ДОКС). Резистентность к химиотерапии снижает эффективность лечения, способствует возникновению рецидивов и метастазов. Один из возможных подходов к преодолению лекарственной устойчивости может быть связан с E2F1 регуляцией белка p73, принадлежащего семейству опухолевого супрессора p53. Многочисленные изоформы этого белка могут оказывать как про-онкогенное (DNp73), так и анти-онкогенное (TAp73) действия. На E2F1/p73 путь может влиять цитомегаловирус (ЦМВ) человека, часто обнаруживаемый в опухолях, так как стратегия вирусного генома включает блок апоптоза. Активность транскрипционных факторов E2F1 и p73 связана также с метаболизмом биогенных полиаминов. Это позволяет предположить, что препараты, молекулярными мишенями которых являются ферменты метаболизма полиаминов, могут сенсibilизировать инфицированные ЦМВ лейкемические клетки к доксорубину.

В нашей работе мы впервые показали, что в результате заражения ЦМВ в клетках моноцитарной лейкемии ТНР-1 значительно повышается уровень E2F1 и изменяется соотношение изоформ белка p73 в сторону укороченной изоформы DNp73, что способствует выживанию лейкемических клеток после обработки ДОКС. Впервые показано, что после воздействия ингибитором катаболизма полиаминов MDL72527 на клетки ТНР-1, обработанные ДОКС, происходит значительное увеличение отношения TAp73 к DNp73, сопровождающееся гибелью клеток. Полученные данные показали, что метаболический путь полиаминов является перспективной мишенью для дальнейших исследований с целью преодоления хеморезистентности опухолей как инфицированных, так и неинфицированных цитомегаловирусом.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 17-04-00812).

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Вострюхина О.А., Мирлина Е.Д., Бутрович Г.М.

НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, Россия, 188300, Ленинградская область, г. Гатчина, микрорайон Орлова роща дом 1

[Vostriukhina\\_OA@npi.nrcki.ru](mailto:Vostriukhina_OA@npi.nrcki.ru)

Несмотря на быстрорастущие знания о биологии колоректального рака (КРР), особенно в области генетики, эпигенетики и молекулярно-клеточной биологии, основным клиническим критерием прогноза для больных КРР по-прежнему остается система стадирования опухолевого процесса Tumor – Node – Metastasis (TNM). В соответствии с этой классификацией некоторые пациенты могут получать недостаточное или, наоборот, избыточное лечение.

Оказалось, что даже в пределах клинически однородных групп пациентов КРР характеризуется высокой гетерогенностью течения и ответа на терапию; по-видимому, подобное разнообразие связано с тем, что под видом одного и того же морфологического типа опухолей скрываются несколько разновидностей заболевания, различающихся по своему молекулярному патогенезу [1].

Экспоненциальный рост знаний в области молекулярной генетики привел к выявлению генетических и эпигенетических изменений, участвующих в злокачественной прогрессии. Многие из них были предложены в качестве биомаркеров, которые могут быть использованы в клинической практике для оценки прогноза КРР [2]. Мы рассмотрим и суммируем данные о таких изменениях и попытаемся прогнозировать, какие исследования могли бы привести к появлению новых биомаркеров КРР.

Идеальный молекулярный маркер должен быть высокочувствительным и специфичным; тест для его определения должен быть минимально инвазивным, безопасным и доступным для широкого использования. Надежный биомаркер должен обнаруживать геномные изменения и/или изменения экспрессии белка, которые специфически коррелируют с заболеванием, помогая клиницистам принимать персонализированные решения относительно лечения. Такие высокие требования к биомаркерам КРР привели к тому, что, в настоящее время реально используются в мировой клинической практике лишь некоторые из них, в том числе микросателлитная нестабильность генома, мутации генов *KRAS* и *BRAF* и мультигенный анализ Oncotype Dx Colon Cancer Assay.

Большинство выявленных при различных исследованиях биомаркеров потерпели неудачу в валидационных исследованиях. Слишком часто возникают несоответствия между первоначальными докладами и последующими исследованиями из-за различных методов анализа, разработки исследований и/или статистических методологий [3]. Для того, чтобы иметь возможность использовать ассоциированные с КРР биомаркеры в клинической практике, необходимы крупномасштабные исследования для выявления оптимальных маркерных панелей и проверки этих биомаркеров в проспективных международных исследованиях.

[1]. Имянитов Е. Н., Стандартные и потенциальные предиктивные маркеры при опухолях желудочно-кишечного тракта. // 2012, Практическая онкология, Т. 13, С. 219-228.

[2]. Aghagolzadeh P., Radpour R., New trends in molecular and cellular biomarker discovery for colorectal cancer. // 2016, World J. Gastroenterol., V. 22, P. 5678-5693.

[3]. MacCarthy A., Kirtley S., de Beyer J.A., Altman D.G., Simera I., Reporting guidelines for oncology research: helping to maximise the impact of your research. // 2018, Br. J. Cancer, V. 118, P. 619-628.

## ПОИСК МУТАЦИЙ В ГЕНАХ СУПРЕССОРОВ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА У БОЛЬНЫХ МЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Гималова Г.Ф.<sup>1</sup>, Абдуллин З.С.<sup>2</sup>, Низамова А.Р.<sup>3</sup>, Сакаева Д.Д.<sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Россия, Уфа, Пр.Октября, 71;

<sup>2</sup>ГБУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер, Россия, Уфа, Пр.Октября, 73/1; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Россия, Уфа, ул.Валиди, 32

[galiyagimalova@gmail.com](mailto:galiyagimalova@gmail.com)

Рак легкого (РЛ) является одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний и основной причиной смертности от них. Ежегодно в мире регистрируется 1 млн. новых случаев рака легкого, в России данный показатель составляет 60 тыс. случаев. Выделяют два основных гистологических типа РЛ: немелкоклеточный (НМРЛ) и мелкоклеточный (МРЛ), последний составляет около 15–20% всех случаев РЛ. МРЛ относится к наиболее злокачественно текущим опухолям и характеризуется коротким анамнезом, быстрым течением и имеет тенденцию к раннему метастазированию. Генетические исследования МРЛ выявили многочисленные хромосомные перестройки. В большинстве случаев МРЛ обнаруживаются делеции участков, которые содержат гены супрессоров опухолей (3p, 5q, 13q, 17p), амплификация участков, содержащих различные онкогены (1p, 2p, 3q, 5p, 8q и 19p), соматические мутации в генах факторов транскрипции, ферментов, вовлеченных в модификации хроматина, рецепторов тирозинкиназ и других белков. Полногеномные же исследования МРЛ выявили мутации гена TP53 в более чем 90% случаев. В связи с этим нами проведен поиск мутаций в данном гене у больных МРЛ, проживающих в Республике Башкортостан. Материалами для исследования послужили 70 образцов тканей, фиксированных в формалине и залитых в парафин. Поиск мутаций осуществлялся методом мультиплексной лигазозависимой амплификации (MLPA-анализ). В результате проведенного исследования выявлено 15 образцов, имеющих гетерозиготные дубликации в первом экзоне гена TP53, и один образец с дубликациями в четвертом, седьмом и десятом экзонах гена. Большинство же образцов имели делеции в исследованной области 17p13, содержащей ген TP53. В их числе пять образцов с делециями в седьмом экзоне гена MPUD1, пять образцов с делециями первого экзона ATR1B2, четыре – с делециями 4-6 экзонов гена TP53, три – с делециями 2 экзона гена TP53 и седьмого экзона гена ATR1B2. У одного образца выявлена делеция 13 экзона гена SNEK2. Кроме того, в ходе анализа обнаружено четыре образца с мутацией с.1100delC гена SNEK2.

Таким образом, большинство из исследованных образцов имеет структурные изменения в кодирующих областях гена TP53 и всего региона 17p13.1, что в целом согласуется с литературными данными. Также необходимо отметить, что выявленная в гене SNEK2 делеция ассоциирована в различных популяциях с развитием рака молочной железы, яичников и простаты, однако у больных с МРЛ ранее не описана.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №17-44-020115.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ВОЗРАСТНЫХ ФАКТОРОВ РИСКА ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ЭКСТРАПИРАМИДНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ

Голоенко И.М.<sup>1</sup>, Обьедков В.Г.<sup>2</sup>, Горгун О.В.<sup>2</sup>, Левданский О.Д.<sup>1</sup>, Шимкевич А.М.<sup>1</sup>,  
Шатарнова Т.М.<sup>1</sup>, Давыденко О.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,

Беларусь, 220027, Минск, ул.Академическая, 27,

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет МЗ РБ

[goloenkoi@tut.by](mailto:goloenkoi@tut.by)

Появление лекарственных экстрапирамидных реакций (ЭР) у значительной части пациентов с шизофренией, как правило, обусловлено неправильным подбором нейролептика, режима его дозирования, а также исключением индивидуальных особенностей пациента из ряда возможных факторов риска осложнений. При поиске молекулярных маркеров для применения фармакогенетического генотипирования необходимо также изучение широкого диапазона межиндивидуальных различий от действия антипсихотиков и, в первую очередь, анализ взаимодействия с факторами возраста и пола. Экстрапирамидные нарушения оценивались по шкале ESRS-A (ExtrapyramidalSymptomRatingScale). ПЦР-ПДРФ и ПЦР-РВ проводились в 3 группах пациентов, страдающих параноидной шизофренией: с острой лекарственно индуцированной акатизией (n=127); острым лекарственно индуцированным паркинсонизмом (n=115); без лекарственно индуцированных ЭР (n=91). Анализа частот генотипов проводился в зависимости от пола, возраста пациента, возраста начала заболевания, длительности заболевания. Для статистической обработки данных использовалась компьютерная программа SPSS 20.0. Установлено, что маркерами риска лекарственно индуцированной акатизии явились полиморфные локусы генов GST-M1(del), GST-T1(del), 5-HTTLPR и DRD2 в зависимости от пола, возраста пациента и возраста начала заболевания. Риск лекарственно индуцированного паркинсонизма также обнаружил связь с факторами пола, возраста пациента и возраста начала заболевания, которые были значимо ассоциированы с полиморфными локусами генов: GST-M1(del), MDR1, CYP2D6 4, DRD2, 5-HTTLPR.

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ – АДЕНОМИОЗА

Гринчук Т.М., Шилина М.А., Кожухарова И.В., Домнина А.П., Зенин В.В.,  
Никольский Н.Н.

*Институт цитологии Российской академии наук, Россия, Санкт-Петербург Тихорецкий  
проспект 4*

*grintat@bk.ru*

Аденомиоз – одна из форм эндометриоза, распространенного заболевания женской репродуктивной системы, которое может приводить к бесплодию у женщин. Цель настоящей работы – выявить существование кариотипических различий мезенхимных стволовых клеток человека из десквамированного эндометрия от здорового донора (эМСК) и пациентки с аденомиозом (эМСК-А). Анализ физиологических характеристик (морфология, дифференцировка, экспрессия поверхностных CD-маркеров) между анализируемыми клетками различий не выявил. Цитогенетический анализ (6—7 пассаж), окрашенных дифференциально на G-диски метафазных хромосом, показал, что эМСК-А в отличие от клеток эМСК число клеток с нарушениями структуры кариотипа доминировало. Выявленные изменения были связаны с анеуплоидизацией клеточной популяции и наличием неслучайных хромосомных поломок с преимущественным вовлечением хромосом 7 и 11. В контрольной клеточной популяции (эМСК) структура кариотипа оставалась преимущественно стабильной. Анализ полученных данных позволяет заключить, что аденомиозные клетки на фоне физиологической стабильности характеризуются повышенной нестабильностью структуры кариотипа с неслучайным вовлечением в перестройки определенных хромосом набора. К 26-ому пассажу анализируемые клетки переставали делиться и входили в фазу репликативного старения. В связи с этим был сделан вывод, что несмотря на то, что клетки от донора с аденомиозом характеризовались повышенной нестабильностью кариотипа с вовлечением в перестройки определенных хромосом, что характерно для трансформированных клеток, проанализированная нами клеточная линия иммортализацию и трансформацию не претерпела.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ.

## IN SILICO ОЦЕНКА УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПУТЯМИ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В КЛЕТКАХ КАРЦИНОМЫ ПОЧКИ ЧЕЛОВЕКА (ЛИНИЯ А498)

Демин А.Г. , Полуконова А.В., Наволокин Н.А., Полуконова Н.В.

СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, ул. Б.Казачья, 112

[rustle.reed@gmail.com](mailto:rustle.reed@gmail.com)

При исследовании культуры клеток рака почки человека (линия А498) под действием флавоноидсодержащего экстракта аврана лекарственного *Gratiola officinalis* и его отдельных фракций было выявлено образование: аутофагосом, апоптотических телец, полиплоидных клеток, а также гибель клеток некрозом. Для выяснения путей и молекулярных механизмов программируемой клеточной гибели (ПКГ) клеток А498 под действием экстракта аврана необходимо исследовать транскриптомный профиль генов, ассоциированных с разными вариантами ПКГ. С этой целью был определен транскриптомный профиль 82 генов, ассоциированных со следующими вариантами ПКГ: Pro-Apoptotic, Anti-Apoptotic, Apoptosis and Autophagy, Apoptosis and Necrosis, Autophagy, Necrosis в не подвергавшихся воздействию клетках карциномы почки человека (линия А498).

Выполнен анализ базы данных SRA (Sequence Read Archive; NCBI), содержащей архивы «сырых» результатов высокопроизводительного секвенирования. Были найдены SRA-архивы SRX1896988 и SRX1084573, относящиеся к двум независимым проектам и содержащие необработанные результаты секвенирования транскриптома контрольных образцов клеточной линии А498.

В качестве образцов транскриптов использовались последовательности, приведенные в базе Gene (NCBI). Анализ проводился в программе Geneious 9.1.7. Для оценки сравнительного уровня экспрессии использовался метод картирования массива сырых ридов на референс (оригинальный алгоритм Geneious), в качестве которого выступали транскрипты 82 генов.

При использовании базы данных SRX1896988 содержащей 159616690 ридов длиной 100 п.о. в картировании суммарно было задействовано 879116 ридов; - SRX1084573 содержащей 58022863 ридов длиной 36 п.о. суммарно было задействовано 546585 ридов.

Результаты, полученные с применением обеих баз данных оказались схожими. Полученные данные свидетельствуют о том, что в неподверженной внешним воздействиям клеточной культуре карциномы почки человека сравнительно больших показателей достигает экспрессия генов, ассоциированных с аутофагией. Такие данные вполне согласуются с устойчивостью клеток данной линии к химиотерапии за счет способности к цитопротекторной аутофагии.

Представленное исследование профинансировано РФФИ по исследовательскому проекту № 18-015-00298

## МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА

Джапаридзе Л.А., Суворова О.А.

Санкт-Петербургский научный центр РАН, Россия, Санкт-Петербург

[ljap2005@yandex.ru](mailto:ljap2005@yandex.ru)

Интерес мировой науки к изучению микробиома человека неуклонно возрастает. В 2007 г. Национальный институт здоровья США инициировал масштабный фундаментальный научный проект «Микробиом человека» (Human Microbiome Project), который объединяет разработки ученых из различных стран мира, в т. ч. США (NIH), Австралии (CSIRO), Канады (CIHR), Китая (MOST), стран Европейского союза и др. Итоги десятилетней работы привели к серьезным изменениям во взглядах ученых на биологию человека и развитие многих заболеваний. Прогресс в изучении микробиома и в точке зрения на его роль в поддержании здоровья человека рассматривается как одно из наиболее значимых достижений современной биологии и медицины.

Микробиом человека имеет дискретную организацию и распределен по всем органам, сообщаясь с внешней средой. Фактически любая открытая поверхность человеческого тела заселена микроорганизмами, которые играют важную роль в поддержании иммунитета, обмене веществ, пищеварении и реализации других важных функций. Ротовая полость, желудок, кишечник, верхние дыхательные пути, мочеполовая система, кожа, глаза, волосы, нос, уши содержат свой собственный уникальный специфический и очень сложный микробный комплекс, состоящий из отличающихся друг от друга видов с определенным набором функций. Специфические микробиомы недавно обнаружены также в плаценте, легких и крови, то есть в органах и средах, ранее считавшихся стерильными

Каждый локальный микробиом характеризуется индивидуальным составом и функциями, на которые оказывают влияние анатомические и физиологические особенности заселяемого органа. Специфическая для конкретной экосистемы симбиотическая микробиота посредством конкуренции за сайты адгезии и путем стимуляции иммунных ответов защищает свой биотоп от патогенной колонизации посторонними микробами. Вместе с тем все микробные сообщества, обитающие в различных локусах тела человека, находятся в постоянном взаимодействии между собой и макроорганизмом, образуя единую надорганизменную систему.

Развитие предлагаемого научного направления позволит существенно продвинуться в формировании новых персонифицированных подходов в коррекции, профилактике и лечении многих заболеваний, т.к. известно, что инфекции в острой или хронической форме являются первопричиной подавляющего большинства болезней человека.

## ТЕРАПИЯ ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА, ОСНОВАННАЯ НА ПРИНЦИПЕ ЭРАДИКАЦИИ СТВОЛОВЫХ ИНИЦИИРУЮЩИХ РАКОВЫХ КЛЕТОК

Долгова Е.В.<sup>1</sup>, Мишинов С.В.<sup>2</sup>, Ступак В.В.<sup>2</sup>, Завьялов Е.Л.<sup>1</sup>, Риттер Г.С.<sup>1</sup>, Кисаретова П.Э.<sup>1</sup>, Ефремов Я.Р.<sup>1</sup>, Байбородин С.И.<sup>1</sup>, Таранов О.С.<sup>3</sup>, Проскурина А.С.<sup>1</sup>, Поттер Е.А.<sup>1</sup>, Останин А.А.<sup>4</sup>, Черных Е.Р.<sup>4</sup>, Богачев С.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск, 630090, пр. акад. Лаврентьева 10; <sup>2</sup> ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, Новосибирск, 630091, ул. Фрунзе 17; <sup>3</sup> ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Россия, р. п. Кольцово, Новосибирская область, 630559; <sup>4</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Россия, Новосибирск, 630099, ул. Ядринцевская 14

[dolgova.ev@mail.ru](mailto:dolgova.ev@mail.ru)

Показано, что стволовые иницирующие раковые клетки (СИРК) глиобластомы человека способны к интернализации экзогенной ДНК (полученная методом ПЦР ДНК *Alu*-повтора человека, меченная флуорохромом TAMRA). На примере операционных образцов глиомы человека показано, что при увеличении степени злокачественности опухоли увеличивается количество СИРК, детектирующихся методом интернализации *Alu*-TAMRA зонда (TAMRA+ клетки). Имеется достоверное отличие по количеству TAMRA+ клеток между переходной стадией Grade II-III и Grade III, Grade IV ( $p < 0,05$ ).

Результаты исследования, проведенного *in vitro* на двух первичных культурах, а также на иммортализованной культуре U87, свидетельствуют о синергичном таргетном действии цитостатика и препарата ДНК как на СИРК, так и на дифференцированные клетки глиобластом, что проявляется в виде снижения их количества относительно контрольных групп. Способность СИРК интернализировать фрагменты экзогенной ДНК позволила использовать подход совместной терапии цитостатиком и препаратом ДНК [1, 2] для лечения подкожных трансплантатов глиобластомы U87. При этом рост подкожных графтов в группе цитостатик+ДНК существенно замедлялся.

Для окончательного подтверждения эффективности терапии культура клеток U87 была обработана цитостатиком митомицином С и препаратом ДНК *in vitro*. Далее клетки были интрацеребрально перевиты дважды иммунодефицитным мышам. Данная система позволила исключить эффект неравномерной доставки препарата к клеткам, а также влияние иммунной системы на проводимую терапию. При равном количестве перевитых клеток, в контрольной группе произошло развитие графта у 100% животных, в группе митомицин С – у 50%, в группе цитостатик+ДНК графт не развился ни у одного экспериментального животного. Неспособность обработанной культуры давать жизнеспособный интрацеребральный трансплантат у иммунодефицитных мышей свидетельствует о том, что терапевтический эффект, тормозящий развитие опухоли, связан именно с удалением СИРК из перевиваемой культуры и не зависит от активности клеток иммунной системы.

[1]. Dolgova E.V., Alyamkina E.A., Efremov Y.R., et al., Identification of cancer stem cells and a strategy for their elimination. // 2014, Cancer Biol Ther., V.15, P. 1378-1394.

[2]. Potter E.A., et al., 11580-11594.

## ГЕНЫ ДЛЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА, ВЫЯВЛЕННЫЕ С ПОМОЩЬЮ НОВЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА АССОЦИАЦИЙ

Зоркольева И.В.<sup>1</sup>, Белоногова Н.М.<sup>1</sup>, Свищева Г.Р.<sup>1,2</sup>, Кириченко А.В.<sup>1</sup>, Аксенович Т.И.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10;

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Москва, ул. Губкина, 3;

<sup>3</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

[zor@bionet.nsc.ru](mailto:zor@bionet.nsc.ru)

Крупномасштабные полногеномные исследования последних лет выявили около 100 локусов, ассоциированных с ишемической болезнью сердца (ИБС). Однако они объясняют лишь малую часть генетической компоненты признака.

Чтобы восполнить существующий пробел, мы применили подход, который ранее не использовался для картирования этого заболевания. В его основе лежит анализ ассоциаций на генном уровне, при котором все полиморфные варианты внутри гена анализируются одновременно. Это позволяет установить статистически значимую ассоциацию между геном и признаком даже в том случае, когда ни один из вариантов внутри гена не дает значимого сигнала.

Важной особенностью нашего исследования является также то, что при его выполнении не использовалась информация об индивидуальных фенотипах и генотипах. Материалом служили результаты полногеномного анализа ассоциаций ИБС, депонированные в открытых базах данных MICAD ([www.cardiogramplusc4d.org](http://www.cardiogramplusc4d.org), размер выборки 120575, число маркеров 85112) и UK Biobank ([www.ukbiobank.ac.uk](http://www.ukbiobank.ac.uk), размер выборки 337199, число маркеров 10894597). Основными преимуществами такого материала являются огромный размер выборки и доступность любому исследователю.

Анализ ассоциаций проводили с помощью пакета sumFREGAT (<https://CRAN.R-project.org/package=sumFREGAT>), созданного в нашей лаборатории. В этом пакете реализован широкий спектр новых методов для тестирования генных ассоциаций, что позволяет существенно увеличить мощность анализа.

Значимые сигналы ассоциации были получены для 88 генов, 72 из которых расположены в уже известных локусах, ассоциированных с ИБС [1]. Однако 16 генов, локализованных вне этих регионов, являются новыми. Информация, имеющаяся для этих новых генов, позволяет рассматривать многие из них в качестве кандидатов для ИБС. Так, ген *UTP20* контролирует кальцификацию коронарной артерии, ген *PRKD2* участвует в ангиогенезе, ген *EHBP1* связан с уровнями липидов, а мутации в гене *PLEKHM2*, приводящие к аномальной локализации лизосом и нарушению механизмов аутофагии, являются причиной рецессивной дилатационной кардиомиопатии и некомпактной кардиомиопатии левого желудочка. Эти результаты позволяют расширить наши знания о генетических факторах, участвующих в развитии ИБС.

[1] Klarin D., et al. Genetic analysis in UK Biobank links insulin resistance and transendothelial migration pathways to coronary artery disease. // 2017, Nat. Genet., V. 49, P. 1392-1397.

Данная работа выполнена при поддержке Минобрнауки (0324-2018-0017) и РФФИ (18-04-00076 и 19-04-00160).

**GROUP SPECIFIC MAF В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО РАКА**

Долгова Е.В.<sup>1</sup>, Кирикович С.С.<sup>1</sup>, Левитес Е.В.<sup>1</sup>, Проскурина А.С.<sup>1</sup>, Риттер Г.С.<sup>1</sup>,  
Таранов О.С.<sup>2</sup>, Астрейка М.Ю.<sup>3</sup>, Останин А.А.<sup>4</sup>, Леплина О.Ю.<sup>4</sup>, Черных Е.Р.<sup>4</sup>, Богачев  
С.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск, Адрес 630090, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Россия, 630559, НСО, р. п. Кольцово; <sup>3</sup>Клинико-диагностический реабилитационный центр «SANAD», Казахстан, Караганда; ул. Кривогуза, 41; <sup>4</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии", Россия, 630099, Новосибирск, ул. Ядринцевская., 14.

[labmolbiol@mail.ru](mailto:labmolbiol@mail.ru)

Рак наряду с заболеваниями сердца является одной из наиболее частых причин смерти у людей. Современные методы лечения рака включают в себя хирургическое удаление опухоли, химиотерапию, лучевую терапию, генную терапию, таргетную терапию нацеленную на стволовые иницирующие раковые клетки, гормональное лечение и различные варианты иммунотерапии. Исследования злокачественной ткани свидетельствуют о патологических нарушениях в функционировании иммунных клеток инфильтрирующих опухоль, несущих основную противораковую нагрузку, и в первую очередь макрофагов. GcMAF (групп специфичный фактор, активирующий макрофаги) является многообещающим, новым, несанкционированным препаратом при лечения рака. В ЛИКП ФНЦ ИЦиГ СО РАН совместно с ООО «MAF-RF» выделен и охарактеризован препарат характеризующийся свойствами GcMAF (первоначально определенный как GcMAF related factor). Предшественник GcMAF – DBP (Витамин Д<sub>3</sub> связывающий белок) был выделен из плазмы крови человека с использованием афинной хроматографии. После активации субстрат-ассоциированными ферментами  $\beta$ -galactosidase и sialidase был получен GcMAF-RF в форме смеси родственных полипептидов. Вестерн-блот анализом был оценен размер специфического фактора, которых определялся как белок с молекулярной массой 59-60 Кда. В ходе работы были экспериментально показаны следующие базовые свойства выделенного MAF: активация перитонеальных макрофагов у мышей, смена поляризации дифференцированных макрофагов человека в системе *ex vivo* на M1 фенотип, стимулирующее действие на созревание и функции дендритных клеток человека в системе *ex vivo*. Охарактеризовано цитоторедущее действие активированных GcMAF перитонеальных макрофагов при их сокультивировании с MCF-7 и U-87 раковыми клетками. Биологические тесты на модельной опухоли глиобластомы человека U-87, перевитой подкожно иммунодефицитным мышам, наглядно показали противораковую эффективность полученного препарата. Полученные результаты подтверждают, что основная концепция противоракового действия GcMAF состоит в активации макрофагов и как следствие в редукции опухоли до полной ее эрадикации. Таким образом, GcMAF обладает значительным терапевтическим потенциалом, который в нашей стране клинически не верифицирован. Данная работа была выполнена по заказу и при поддержке Зайцевой И.Н. (ООО «MAF-RF»).

## SEX RATIO IN EPIDEMIOLOGY OF HUMAN CHROMOSOME ABNORMALITIES: AN UNDERAPPRECIATED TOOL FOR RECOGNITION AND EXAMINATION OF PATHOLOGIC PROCESSES, AND RISKS PREDICTION

Kovaleva N.V.

Academy of Molecular Medicine, St. Petersburg, Mytninskaya str., 12/44,  
Russian Federation

[kovalevanv2007@yandex.ru](mailto:kovalevanv2007@yandex.ru)

While sex ratio (SR) in the general population is considered as paramount genetic, medical, and social essence, the association of SR deviations with chromosome abnormalities is underappreciated. The current presentation aims to give examples of the author's successful application of SR-based analysis in various areas of chromosome abnormalities epidemiology.

✓ Well-established male-biased SR in Down syndrome (DS) raised an assumption of nonhomologous meiotic co-orientation (NMC) of X chromosome and chromosome 21 in spermatogenesis. That was the first evidence of NMC in man which was subsequently supported by analysis of SR among trisomy 21 (T21) offspring of carriers of non-contributing rearrangements, dup(21q), and gonadal mosaicism for T21.

✓ Unlike to male-biased SR among DS patients with confirmed T21, patients with false-positive diagnosis demonstrate a strong female predominance. Based on data on SR in both clinically diagnosed DS and true DS cases, determination of the rate of false-positive is realizable in populations where sufficient completeness of cytogenetic confirmation is not achievable.

✓ Female predominance was found among carriers of chromosomal rearrangement with pericentromeric breaks leading to a conclusion of sex-specific centromere instability in early embryos.

✓ Female predominance among carriers of gonadal mosaicism for regular trisomies was explained by sex-specific trisomy correction. Trisomy correction causing uniparental disomy (*upd*) was female-biased too.

✓ Recently discovered female-biased SR among both newborn and prenatally detected carriers of Robertsonian translocation (*Rob*) may also be explained by female-specific rescue of translocation trisomy. The latter might elucidate unusual segregation of maternally transmitted translocations discussed for five decades.

✓ The risk of *upd* in balanced *Rob* female carriers is multi-fold higher compared to that in male carriers.

✓ SR-based study suggested an impact of paternal rearrangement on maternal chromosomes' segregation after fertilization.

✓ A deficit of males among carriers of gonadal/somatic mosaicism for noncentromeric unbalanced rearrangement, but typical male predominance among mosaics for balanced rearrangement could be explained by either instability of female genomes or lower male carriers viability, or male-specific selection against abnormal cells. Recent study gives evidence for the latter suggestion which means a better prognosis for prenatally detected male carriers.

## ПОЛИМОРФИЗМ rs590352 (C>G) ГЕНА *ATXN7L3B* И РИСК РАЗВИТИЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Дегтярева А.О.<sup>1,2</sup>, Леберфарб Е.Ю.<sup>1,2</sup>, Брызгалов Л.О.<sup>1</sup>, Брусенцов И.И.<sup>1</sup>, Воевода М. И.<sup>1</sup>, Аутеншлюс А. И.<sup>2</sup>, Максимов В. Н.<sup>1,2</sup>, Морозов Д. В.<sup>3</sup>, Соколов А.В.<sup>3</sup>, Меркулова Т.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ ИЦиГ СО РАН, РФ, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10

<sup>2</sup>ГБОУ ВО НГМУ Минздрава России, РФ, г. Новосибирск, Красный пр., 52

<sup>3</sup>ГБУЗ НСО городская клиническая больница №1

[Degtyareva\\_rso@mail.ru](mailto:Degtyareva_rso@mail.ru)

Ранее нами был разработан новый биоинформатический подход для выявления регуляторных полиморфизмов (rSNP), основанный на анализе полногеномных данных по аллель-асимметрии связывания белков хроматина и транскрипционных факторов и аллель-асимметрии экспрессии генов [1]. С помощью разработанного подхода и использования данных ICGC (International Cancer Genome Consortium) было выявлено 30 rSNP, потенциально связанных с колоректальным раком. По 6 полиморфизмам было проведено генотипирование на 160 пациентах с колоректальным раком и 185 здоровых людях в возрасте 50-80 лет. Для трех полиморфизмов (rs2072580, rs4796672, rs590352) была установлена связь с заболеванием. Для rs590352 было показано, что люди с генотипом CC (CC vs GG + GC) имеют повышенный риск развития колоректального рака (OR=1,7, p-value=0.02). Более выраженная взаимосвязь генотипа с риском заболевания выявлена у мужчин (OR=2, p-value=0.02). Анализ доступных данных RNA-seq проекта ENCODE для 23 гетерозиготных по rs590352 клеточным линиям выявил увеличение экспрессии аллеля G. По литературным данным продукт гена *ATXN7L3B* влияет на работу гистонацетилацетилтрансферазного комплекса SAGA, осуществляющего котранскрипционные модификации хроматина [2]. Показано, что повышенная экспрессия *ATXN7L3B* приводит к снижению активности компонента комплекса SAGA – деубиквитиназы, в результате чего повышается уровень убиквитинированного гистона (H2Bub1). Имеются данные о подавляющем влиянии H2Bub1 на прогрессию опухолей, и о снижении его уровня на поздних стадиях рака молочной железы, легких, прямой кишки [3]. Таким образом, основываясь на наших данных и данных литературы, возможно предположение об онкопротективном эффекте аллеля G rs590352 гена *ATXN7L3B*.

[1]. Korbolina E.E. et al., Novel approach to functional SNPs discovery from genome-wide data reveals promising variants for colon cancer risk. // 2018, Hum Mutat, V.39 (6), P.851-859

[2]. Li W. et al., Cytoplasmic ATXN7L3B Interferes with Nuclear Functions of the SAGA Deubiquitinase Module. // 2016, Mol Cell Biol., V. 36(22), P. 2855-2866

[3]. Urasaki Y. et al., Coupling of glucose deprivation with impaired histone H2B monoubiquitination in tumors. // 2012, PLoS One., V. 7(5), P. e36775

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ

№18-29-09041

## МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЦИТОГЕНЕТИКИ В ОПИСАНИИ КАРИОТИПИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ.

Лемская Н.А.<sup>1</sup>, Романенко С.А.<sup>1</sup>, Дольский А.А.<sup>1</sup>, Прокопов Д.Ю.<sup>1</sup>, Шорина А.Р.<sup>2</sup>,  
Максимова Ю.В.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-т ак. Лаврентьева, 8/2; <sup>2</sup> ГБУЗ НСО «Государственный Новосибирский областной клинический диагностический центр», Россия, Новосибирск, ул. Октябрьская, 34.

[lemnat@mcb.nsc.ru](mailto:lemnat@mcb.nsc.ru)

В результате перестройки, произошедшей в гаметах одного из родителей, появляются пробанды, все клетки которых несут мутацию. В случае возникновения *de novo* наблюдается мозаицизм, при этом выраженность отклонения зависит от стадии эмбриогенеза, на которой возникла мутация. Дети – носители хромосомных aberrаций, которые рождаются и выживают, часто страдают от очень серьезных психических и/или физических патологий. Для родителей, в семьях которых появляются дети с аномалиями кариотипа важно знать риски появления больных потомков в следующих беременностях. Часто носители сбалансированных перестроек не подозревают об их наличии и при этом имеют повышенный риск рождения детей с отклонениями в результате формирования гамет с перестройкой в ходе мейотической сегрегации.

Основным методом исследования кариотипа до сих пор остается GTG-окрашивание. Однако во многих случаях невозможно надежно идентифицировать происхождение дериватных элементов, установить границы разрывов хромосом. Для этих целей хорошо подходят методы молекулярной цитогенетики – такие, как прямой и реципрокный пэинтинг, микродиссекция аномальных хромосом.

В работе с помощью молекулярно-цитогенетических подходов были проанализированы клинические случаи хромосомных aberrаций, унаследованные от родителей и возникшие *de novo*, установлены районы перестроек и границы разрывов. Полученные сведения помогают врачам генетикам верифицировать первичные диагнозы и прогнозировать вероятность рождения здоровых потомков.

**Благодарности:** Исследование выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант 18-04-00826 А.

## ВЛИЯНИЕ ПОЛА НА МИНЕРАЛОКОРТИКОИДНУЮ АКТИВНОСТЬ ПРИ МЕЛАНКОРТИНОВОМ ТИПЕ ОЖИРЕНИЯ У МЫШЕЙ Au.

Логвиненко Н.С., Каткова Л.Е., Батурина Г.С., Багинская Н.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), Россия, Новосибирск, 630090, пр. ак. Лаврентьева, 10

[ninlo@bionet.nsc.ru](mailto:ninlo@bionet.nsc.ru)

Меланокортиновое ожирение является наиболее распространенным типом генетического ожирения в человеческой популяции. Желтые мыши Agouty (Au) - удобная модель для изучения молекулярных механизмов этого не диетарного типа ожирения. Недавно было показано, что минералокортикоидные рецепторы и гормон альдостерон играют важную и зависимую от пола роль в развитии обычного диетарного ожирения. Осложнения, связанные с этим, часто приводят к хронической сердечной и почечной недостаточности. Однако половые особенности участия минералокортикоидной системы в меланокортиновом типе ожирения изучены недостаточно. Задачей нашего исследования было изучение экспрессии минералокортикоидных рецепторов и уровня альдостерона в крови у самцов и самок мышей Au с меланокортиновым типом ожирения. Методом ПЦР в реальном времени измеряли уровень мРНК минералокортикоидных рецепторов (MR) в гипоталамусе, почках, сердце и адипоцитах у взрослых самцов и самок мышей Au в возрасте 29-30 недель. В этом возрасте у мышей Au уже наблюдается ожирение не диетарного типа. Уровень альдостерона в крови изучали с использованием метода иммуноферментного анализа (набор ELISA для мышинного альдостерона (ALD)). Оценку воспаления почечной ткани производили иммуногистохимическим методом с использованием антител Rat Anti-CD68 (фирма AbCam) к M1 макрофагам. Нами показано, что уровень мРНК минералокортикоидных рецепторов (MR) в коре почек и в левом желудочке сердца у самцов мышей Au много выше, чем у самок ( $p \leq 0,05$ ). Кроме того, оказалось, что у самцов Au процент клубочков, инфильтрированных макрофагами и общее количество макрофагов в клубочках оказалось значительно выше, чем у самок, что также свидетельствует о более выраженном воспалении ткани почек у самцов. Нами не обнаружено половых различий в уровне альдостерона в крови, однако показан значительно более высокий уровень мРНК MR в адипоцитах у самок мышей Au, по сравнению с самцами ( $2,75 \pm 0,19$  и  $0,77 \pm 0,27$  соответственно,  $p \leq 0,05$ ). Мы предполагаем, что эти существенные половые различия в экспрессии минералокортикоидных рецепторов в коре почек, сердце и в адипоцитах самцов и самок мышей Au обусловлены половыми особенностями участия минералокортикоидной системы в развитии меланокортинового типа ожирения.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-04-00912 и бюджетного проекта № 0324-2019-0041

## АНТИДИАБЕТИЧЕСКИЙ ФАКТОР FGF21 ПО-РАЗНОМУ ВЛИЯЕТ НА ПОТРЕБЛЕНИЕ ПИЩИ И УГЛЕВОДНО-ЖИРОВОЙ ОБМЕН У САМЦОВ И САМОК МЫШЕЙ С ГЕНЕТИЧЕСКИМ МЕЛАНКОРТИНОВЫМ ОЖИРЕНИЕМ

Макарова Е.Н.<sup>1</sup>, Балыбина Н.Ю.<sup>2</sup>, Дубинина А.Д.<sup>1</sup>, Денисова Е.И.<sup>1</sup>, Яковлева Т.В.<sup>1</sup>,  
Бажан Н.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева 10; <sup>2</sup>НГУ, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова 1.

[enmakarova@gmail.com](mailto:enmakarova@gmail.com)

Меланокортиновая система гипоталамуса регулирует потребление пищи и расход энергии, снижение активности этой системы у мышей с мутацией  $A^y$  приводит к перееданию и развитию меланокортинового ожирения. Фактор роста фибробластов 21 (FGF21) рассматривают как антидиабетическое средство -его введение животным с ожирением снижает вес тела и уровни глюкозы в крови. Гипоталамус участвует в реализации фармакологических эффектов FGF21, но центральные пути передачи сигнала от FGF21 мало изучены. Центральное действие FGF21 может зависеть от пола особей, поскольку эстрадиол влияет на баланс энергии через гипоталамические структуры. Неизвестно, влияет ли FGF21 на углеводно-жировой обмен у мышей с меланокортиновым ожирением ( $A^y$  мыши), и зависит ли его влияние от пола мышей.

Изучали влияние FGF21 на потребление пищи, углеводно-жировой обмен и экспрессию генов, вовлеченных в регуляцию этих процессов, у самцов и самок мышей с меланокортиновым ожирением. Ожиревшим  $A^y$  мышам обоего пола вводили рекомбинантный мышиный FGF21 (1мг/кг) в течение 10 дней. Оценивали потребление пищи, массу тела, печени и жира, биохимические показатели крови, экспрессию генов в гипоталамусе, печени, буром и белом жире.

Результаты. Влияние FGF21 по-разному проявлялось у мышей разного пола. У самцов FGF21 не влиял на потребление пищи и снижал вес тела и уровень инсулина в крови. У самок FGF21 существенно увеличивал потребление пищи, не влиял на вес тела и увеличивал вес печени. У  $A^y$  самок из контрольной группы по сравнению с самцами была увеличена экспрессия генов, вовлеченных в окисление жирных кислот (*Pgc1*, *Cpt1*) и метаболизм глюкозы (*Pck1*, *G6p*, *Glut2*). У самцов введение FGF21 не изменило, а у самок снизило экспрессию этих генов в печени. Введение FGF21 достоверно снизило экспрессию генов, вовлеченных в липолиз (*Atgl*), биогенез митохондрий (*Pgc1*), дифференцировку адипоцитов (*Ppar $\gamma$* ), захват глюкозы (*Glut4*) в жировой ткани у самок, но не у самцов. Возможно, активирующее влияние FGF21 на аппетит в сочетании с ингибирующим влиянием на экспрессию генов в печени и жировой ткани стали причиной гипертрофии печени и отсутствия снижения веса у  $A^y$  самок.

Т.о., фармакологические эффекты FGF21 зависят от этиологии развития ожирения и пола особей. У самцов с меланокортиновым ожирением FGF21 оказывает благотворное влияние на углеводно-жировой обмен, а у самок повышает аппетит и вызывает гипертрофию печени, что может свидетельствовать о начале развития стеатоза.

Работа поддержана РНФ, проект № 17-15-01036.

## ИЗУЧЕНИЕ «АКТИВНОГО ДОЛОГОЛЕТИЯ» У ЖИТЕЛЕЙ АБХАЗИИ.

Матуа А.З.<sup>1</sup>, Ахуба Л.О.<sup>1</sup>, Трапш Х.З.<sup>1</sup>, Викторова Т.В.<sup>2</sup>, Эрдман В.В.<sup>3</sup>, Амаба С.Т.<sup>1</sup>, Горухчиева Ф.А.<sup>1</sup>, Каландия Т.З.<sup>1</sup>, Григорьев М.В.<sup>1</sup>, Джидарян А.А.<sup>1</sup>, Кубрава Д.Т.<sup>1</sup>, Шевцова З.В.<sup>1</sup>, Баркая В.С.<sup>1</sup>, Елистратова Ж.В.<sup>1</sup>, Алексян А.А.<sup>1</sup>, Дობаджян Н.В.<sup>1</sup>, Конджария И.Г.<sup>1</sup>, Миквабия З.Я.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии Наук Абхазии, 384900, Сухум, ул. Гора Трапеция

<sup>2</sup>Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

<sup>3</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, УФА, Россия

[azmatua76@mail.ru](mailto:azmatua76@mail.ru)

Абхазия – страна, в которой сложились благоприятные для долгожительства условия. В Абхазской АССР популяцию долгожителей, состояние их здоровья и образа жизни, исследовали совместно абхазские, советские и американские ученые, определив связь долгожительства с климатогеографическими и экологическими факторами, определенным пищевым рационом, особенностями традиционного поведения с выраженным пиетет к старшему поколению и другое. Последние 30 лет, комплексного изучения феномена долгожительства не проводилось.

С 2017 года, научно-исследовательская группа НИИЭПиТ АНА, совместно с врачами клиницистами, в рамках утвержденной Академией наук Абхазии «геронтологической» темой, начала проводить обследование жителей Абхазии разных возрастов с выездом на дом к долгожителям. С 2019 года работа была поддержана грантом РФФИ 19-54-40007.

В исследование вошли 100 жителей, от 60 до 113 лет. Обследуемые были разделены на три группы: пожилого (60- 74лет), старческого(75-89лет) возраста и долгожители (90 -113лет). Сбор анамнеза проводили путем индивидуального опроса и анкетирования. В группы были отобраны те, состояние здоровья которых по данным анамнеза соответствовало основными критериями «относительного здоровья»: ясное состояние сознания, без выраженных признаков деменции, двигательная активность, способность к самообслуживанию, отсутствие злокачественных образований и серьезных нарушениях со стороны основных физиологических систем.

В работе проводился широкий спектр лабораторных исследований (гематологических, иммунологических, реологических, биохимических, антиоксидантный статус и др.), часть из которых ранее у геронтов Абхазии не изучался. При сравнении исследованных параметров трех возрастных групп, приближенные данные были получены в группе пожилых людей и долгожителей, и наиболее выраженные достоверны отклонения от нормативных значений были получены в группе людей старческого возраста. В целом, можно говорить о сохранении, до глубокой старости, большинства исследованных показателей у геронтов. Для понятия природы взаимодействия экзо- и эндогенных факторов, потенциально обеспечивающих достижение успешного долголетия, у обследуемых пациентов был отобран биоматериал для дальнейшего молекулярно -генетического исследования.

**Благодарности:** врачам клиницистам, участвовавшим в выездном обследовании пациентов, терапевт - Шаповалова Н.Н., невропатолог - Тележникова И.И. и кардиолог -Ардзинба И.Б.

## ИССЛЕДОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 1 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПСОРИАЗА

Мезенцев А.В.<sup>1</sup>, Могулевцева Ю.А.<sup>2</sup>, Брусскин С.А.<sup>1</sup>, Пирузян Э.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской Академии Наук, Россия, Москва, ул. Губкина 3, 119333; <sup>2</sup> Российский государственный аграрный университет (МСХА им. К.А. Тимирязева), Москва, ул. Тимирязевская, 49, 127550;

[mesentsev@yahoo.com](mailto:mesentsev@yahoo.com)

**ВВЕДЕНИЕ:** Согласно данным ряда клинических исследований, уровень экспрессии матриксных металлопротеиназ 1, -9 и -12 в пораженной псориазом коже коррелирует с тяжестью заболевания. Экспрессия упомянутых генов повышена в период обострения болезни. Напротив, при прохождении курса ПУВА терапии их экспрессия постепенно снижается и достигает нормальных значений по окончании лечебных процедур.

**ЦЕЛЮ** данного исследования было оценить влияние РНК-интерференции *MMP1* в эпидермальных кератиноцитах на биологические эффекты провоспалительных  $T_{H1}$  цитокинов: фактора некроза опухоли (ФНО), интерферона  $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ) и интерлейкина 17 (ИЛ-17).

**МЕТОДЫ:** В работе были получены и охарактеризованы две новые линии эпидермальных кератиноцитов HaCaT-1K и HaCaT-KTR с дефицитом *MMP1* и без, соответственно. Метод количественной ПЦР использовали для оценки изменений в экспрессии генов. Изменения ферментативной активности *MMP1* анализировали методом зимографии. Для изучения миграции клеток сравнивали графические изображения выбранных участков ростовой поверхности клеточных культур, полученные через указанные промежутки времени. Оценку скорости пролиферации клеток проводили путем сопоставления кривых их роста.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:** Сравнительный анализ клеток HaCaT-1K и HaCaT-KTR показал, что РНК-интерференция *MMP1* приводит к снижению содержания целевого белка и снижению его ферментативной активности в 7.5 и 4 раза, соответственно. При этом уровень экспрессии *MMP1* сохраняется на низком уровне, несмотря на присутствие в ростовой среде провоспалительных цитокинов ИЛ-17, ИФН- $\gamma$  и ФНО в концентрациях, многократно превышающих физиологические значения. Помимо этого РНК-интерференция *MMP1* приводит к снижению скорости миграции клеток и замедляет их рост. На уровне генной экспрессии, РНК-интерференция *MMP1* сопровождается частичной нормализацией экспрессии, ряда генов, непосредственно связанных с патогенезом псориаза. Экспрессия *MMP9*, *MMP12*, *KRT17* и *IVL* снижается. Экспрессия *KRT1*, -10 и *LOR*, напротив, увеличивается. Наконец, происходит смещение баланса между циклинами A2 и D1 в сторону большей экспрессии *CCND1*. Перечисленные изменения противоположны тем, что наблюдается в пораженной болезнью коже.

**В ЗАКЛЮЧЕНИЕ:** Полученные результаты свидетельствуют о том, что РНК-интерференция *MMP1* может быть использована для контроля пролиферации и миграции эпидермальных кератиноцитов, а также для нормализации экспрессии ряда генов, непосредственно задействованных в патогенезе болезни.

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА NGS (КЛИНИЧЕСКИЙ ЭКЗОМ) ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ФЕНОТИПИЧЕСКИ ВАРИАБЕЛЬНЫХ ПАТОГЕННЫХ ВАРИАНТОВ В ГЕНЕ MPZ.

Окунева Е.Г.<sup>1</sup>, Барышникова Н.В.<sup>1,2</sup>, Козина А.А.<sup>1,2,3</sup>, Красненко А.Ю.<sup>1,2</sup>, Климчук О.И.<sup>1,5</sup>, Суркова Е.И.<sup>1</sup>, Ильинский В.В.<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>ООО «Генотек», Россия, г.Москва, Наставнический переулок, д.17, стр.1;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, г.Москва, ул.Островитянова, д.1;

<sup>3</sup>Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Россия, г. Москва, ул. Погодинская, д.10, стр.8,

<sup>4</sup>Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова, Россия, г.Москва, ул. Губкина, д.3

<sup>5</sup>МГУ имени М.В. Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д.1.

[elokuneva@bk.ru](mailto:elokuneva@bk.ru)

В настоящее время описаны семь заболеваний, в значительной мере сходных по клинической картине, соответствующей различным вариантам наследственной мотосенсорной полинейропатии (НМСН), обусловленные патогенными вариантами в гене MPZ (MIM 159440). Ген экспрессируется преимущественно в шванновских клетках. Мутации в нём приводят к аксональному и демиелинизирующему типу поражения периферических нервов.

Нами были выявлены патогенные варианты в указанном гене у трёх пациентов с использованием метода NGS (клинический экзом). Данные мутации подтверждены прямым автоматическим секвенированием по Сенгеру.

Секвенирование проводилось на геномном анализаторе HiSeq2500 (Illumina) с использованием парных прочтений длиной 100 нуклеотидов. Биоинформатическая обработка выполнена собственным программным решением компании Genotek. Оценка патогенности мутаций проводилась в соответствии с критериями ACMG.

Пациент №1, Девушка 15-и лет. Выявлена миссенс-мутация с.186C>G в гене MPZ определённая как вероятно-патогенная, ранее описана, частота в Российской популяции 0,25%. Клиническая картина соответствовала НМСН. Случай семейный: отец пробанда, носитель аналогичной мутации, имеет менее выраженные клинические проявления.

Пациент № 2. Мальчик 10 лет. Выявлена ранее описанная миссенс-мутация с.270C>A в 3-м экзоне гена MPZ определённая как вероятно-патогенная.

Пациент № 3. Мальчик 6-и лет. Выявлена ранее описанная миссенс-мутация с.398C>T в 3-м экзоне гена MPZ, определённая как вероятно-патогенная.

Был проведён ретроспективный анализ наличия мутаций в гене MRZ среди пациентов, обследовавшихся в Генотеке с использованием метода экзомного секвенирования.

Были выявлены ещё два пациента с вероятно патогенными мутациями в данном гене. Причем у одного из них (девочка 4-х лет) была выявлена мутация, аналогичная той, что обнаружена у пациента №1. Девочка обследовалась в связи с эписиндромом, наблюдалась у невролога, данных за НМСН не было.

Ещё у одного пациента (девочка 7-и лет) выявлена в 3-м экзоне не описанная ранее делеция со сдвигом рамки считывания с.235-1\_235delGA, которая определена именно как патогенная. Обследовалась в связи со стероид-резистентным нефротическим синдромом. Признаков НМСН не выявлено.

При заболеваниях, обусловленных мутациями в гене MPZ, отмечается фенотипическая вариабельность от НМСН с началом в раннем детском возрасте до аксональной нейропатии

взрослых. Возможно, у двух последних пациентов отсутствие соответствующей клинической картины обусловлено тем, что ещё не наступил возраст начала заболевания, либо неполной пенетрантностью гена. При НМСН в настоящее время используется симптоматическое лечение. Но, начатое рано, оно облегчает течение заболевания, отодвигая возраст инвалидизации.

Применение NGS при клинически и генетически гетерогенных состояниях оптимизирует установление точного диагноза, прогноз и проведение медико-генетического консультирования.

[1] Mandich, P., Fossa, P., Capponi, S., Geroldi, A., Acquaviva, M., Gulli, R., Ciotti, P., Manganelli, F., Grandis, M., Bellone, E. Clinical features and molecular modelling of novel MPZ mutations in demyelinating and axonal neuropathies.// 2009, Europ. J. Hum. Genet. 17: 1129-1134.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВОГО ИНГИБИТОРА ТИРОЗИЛ-ДНК-ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 1 НА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ТОПОТЕКАНА В ОТНОШЕНИИ ПЕРЕВИВАЕМЫХ ОПУХОЛЕЙ МЫШЕЙ *IN VIVO*

Попова Н.А.<sup>1,3</sup>, Каледин В.И.<sup>3</sup>, Лузина О.А.<sup>4</sup>, Захаренко А.Л.<sup>2</sup>, Николин В.П.<sup>3</sup>,  
Салахутдинов Н.Ф.<sup>4</sup>, Лаврик О.И.<sup>1,4</sup>.

<sup>1</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (НГУ), Россия, Новосибирск, пр. Пирогова, 2; <sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 8; <sup>3</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН ФГБНУ, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10; <sup>4</sup>Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 8  
[nelly@bionet.nsc.ru](mailto:nelly@bionet.nsc.ru)

Ранее нами было показано [1], что енаминовые производные усниновой кислоты являются достаточно эффективными ингибиторами Tdp1 и усиливают цитотоксический эффект камптотецина на опухолевые клетки *in vitro*. Далее эксперименты проводили на модели перевиваемой опухоли легких LLC (Lewis Lung Carcinoma) у мышей линии C57BL/6. Сформировано 4 группы: 1 Гр- контроль, мышам на 4, 5 и 6 сутки после прививки опухоли внутрижелудочно вводили по 0.3 мл растворителя (ДМСО-твиновой эмульсии); 2 гр. и 3 гр. – в эти же сроки мышам внутрибрюшинно вводили топотекан в дозе 2 мг/кг; в гр. 3 кроме топотекана внутрижелудочно был введен ИНГ в дозе 10 мг/кг в 0.3 мл растворителя (ДМСО-твиновой эмульсии); мыши 4 группы получали по той же схеме только ИНГ. Эффективность воздействия оценивали по массе солидных опухолей и по числу метастазов в легких мышей, выведенных из эксперимента через 18 суток после трансплантации опухоли. При монотерапии топотеканом торможение роста солидных опухолей составляло 24% по сравнению с контролем, а сочетание топотекана с ИНГ привело к почти двукратному торможению роста опухолей. В отношении влияния на метастазы эффект лечения был значительно более выражен: один топотекан снизил их число втрое, а топотекан в сочетании с ИНГ более чем на 90% по сравнению с контролем. В 4 группе мышей (один ИНГ) исследуемые параметры не отличались от контроля.

Далее экспериментальные метастазы (имплантаты) опухоли в легких получали внутривенным введением опухолевых клеток LLC. И в этом эксперименте группа мышей, получавших только ИНГ, не отличалась от контрольной группы ни по количеству животных с метастазами в легких, ни по среднему числу метастазов на мышь. Топотекан снизил процент мышей с метастазами на 40%, а топотекан в сочетании с ИНГ – на 50%. При этом, в первом случае среднее число метастазов на мышь было  $3,4 \pm 1,5$ , а во втором –  $1,6 \pm 0,6$  (при  $4,6 \pm 0,9$  в контроле). Таким образом, полученный нами ИНГ обладает противоопухолевым и противометастатическим эффектами на модели аденокарциномы легких (LLC) у мышей.

[1] Zakharenko A., et al. Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase 1 Inhibitors: Usnic Acid Enamines Enhance the Cytotoxic Effect of Camptothecin. J. Nat. Prod. 2016. V. 79. P. 2961–2967

## ИТОГИ МНОГОЛЕТНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ГЛУХОТЫ У КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ СИБИРИ: ОТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ ДО МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ, КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Посух О.Л.<sup>1,2</sup>, Барашков Н.А.<sup>3,4</sup>, Зыцарь М.В.<sup>1</sup>, Бады-Хоо М.С.<sup>5</sup>, Данильченко В.Ю.<sup>1</sup>,  
Маслова Е.А.<sup>1,2</sup>, Пшенникова В.Г.<sup>3,4</sup>, Романов Г.П.<sup>3,4</sup>, Соловьёв А.В.<sup>3,4</sup>, Кларов Л.А.<sup>3,4</sup>,  
Федорова С.А.<sup>3,4</sup>, Терютин Ф.М.<sup>3,4</sup>, Лашин С.А.<sup>1,2</sup>, Орищенко К.Е.<sup>1</sup>, Морозов И.В.<sup>2,6</sup>,  
Бондарь А.А.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1; <sup>3</sup>Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Россия, Якутск, ул. Сергеляхское шоссе, 4; <sup>4</sup>Институт естественных наук, Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Россия, Якутск, ул. Кулаковского, 46; <sup>5</sup>Перинатальный центр Республики Тыва, Россия, Кызыл, ул. Оюна-Курседи, 159А; <sup>6</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 8  
[posukh@bionet.nsc.ru](mailto:posukh@bionet.nsc.ru)

Наследственная глухота характеризуется уникально высокой гетерогенностью генетического контроля. Проблема «много генов - один фенотип», наряду с вариабельной распространенностью различных генетических форм потери слуха, требует особого подхода к разработке ДНК-диагностики этого заболевания. Мы представляем результаты многолетних исследований наследственной глухоты у коренного населения Сибири, полученных благодаря плодотворному сотрудничеству наших научных групп (г.Новосибирск и г.Якутск). Созданы информационные базы данных и биобанки образцов ДНК глухих больных и членов их семей, проживающих в Республиках Тыва, Алтай и Саха (Якутия) (~ 1000 образцов). Получены эпидемиологические данные о территориальной распространенности нарушений слуха у населения изучаемых регионов. Изучен мутационный спектр и оценен патогенетический вклад наиболее значимого в этиологии наследуемой глухоты гена *GJB2*, который варьирует от 15.1% у алтайцев до 53.0% - у якутов. Выявлены специфичные для коренных жителей мажорные мутации гена *GJB2*: с.-23+1G>A, р.W172C, с.235delC (у якутов, тувинцев, алтайцев, соответственно), в распространенности которых ключевую роль играет эффект основателя. В семьях с наследуемой глухотой неясной этиологии, с применением современных молекулярных методов, включая полноэкзомное секвенирование, выявлены уже известные и новые патогенетические варианты в генах *SLC26A4*, *OTOF*, *POU3F4*, *GJB6*, *GJB3*, *MITF*, *MT-RNR1*, а также в гене *RAI1*, ранее неизвестном в ассоциации с изолированной потерей слуха. Созданы клеточные модели для функционального анализа *in vitro* ряда потенциально патогенетических вариантов. Полученные данные будут основой для разработки специфичной для коренного населения Сибири диагностической панели генов. Впервые получены социо-демографические данные (уровень брачности, степень брачной ассортативности, параметры репродукции, владение жестовым языком) о сообществах глухих людей в Сибири. Компьютерное имитационное моделирование, базирующееся на основе совокупности полученных социо-демографических и молекулярно-генетических данных, позволит определить возможные тренды и дать долгосрочный прогноз о распространенности наследуемой потери слуха в изучаемых регионах Сибири.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН №0324-2018-0016, Госзадания Минобрнауки РФ №6.1766.2017ПЧ, грантов РФФИ: №17-29-06016офи-м, №18-34-00166мол-а, №15-04-04860А, №18-015-00212А, №18-013-00738А, №18-05-600035Арктика, №18-34-00439мол-а.

## РЕЗУЛЬТАТЫ II ФАЗЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ НОВОГО БИФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ПАНАГЕН, ОБЛАДАЮЩЕГО ЛЕЙКОПРОТЕКТОРНЫМ И ПРОТИВОРАКОВЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Проскурина А.С.<sup>1</sup>, Гвоздева Т.С.<sup>2</sup>, Поттер Е.А.<sup>1</sup>, Долгова Е.В.<sup>1</sup>, Леплина О.Ю.<sup>3</sup>, Останин А.А.<sup>3</sup>, Черных Е.Р.<sup>3</sup>, Рябичева Т.Г.<sup>4</sup>, Вараксин Н.А.<sup>4</sup>, Пономаренко Д.М.<sup>5</sup>, Дворниченко В.В.<sup>5</sup>, Сидоров С.В.<sup>6</sup>, Баклаушев В.П.<sup>7</sup>, Пономарев А.В.<sup>8</sup>, Богачев С.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск, пр.акад.Лаврентьева 10; <sup>2</sup> ГБУЗ Новосибирской области «Городская поликлиника №14», Россия, Новосибирск, ул. Демакова 2; <sup>3</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Россия, Новосибирск, ул. Ядринцевская 14;

<sup>4</sup> ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирская область, р. п. Кольцово; <sup>5</sup> ГБУЗ «Областной онкологический диспансер», Россия, Иркутск, ул. Фрунзе 32; <sup>6</sup> ГБУЗ Новосибирской области «Городская клиническая больница № 1», Россия, Новосибирск, ул. Залесского 6; <sup>7</sup> ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России», Россия, Москва, Ореховый бульвар 28; <sup>8</sup> ООО «Лаборатория инновационных биомедицинских технологий», Россия, Москва, Каширское шоссе 12

[asproskurina@gmail.com](mailto:asproskurina@gmail.com)

В ИЦиГ СО РАН был разработан препарат Панаген (ЛСР № 004429/08 от 09.06.2008) на основе фрагментированной двуцепочечной ДНК человека. Была проведена II фаза клинических испытаний препарата Панаген в таблетированной форме как двойное слепое плацебо-контролируемое исследование с участием пациентов, больных раком молочной железы II-IV стадии (плацебо n=23, Панаген n=57), при проведении трех химиотерапий по схемам FAC и AC. Результаты испытаний показали, что препарат Панаген обладает лейкопротекторным действием, активизирует профессиональные свойства дендритных клеток и индуцирует развитие противоракового адаптивного иммунного ответа. Применение препарата Панаген способствовало защите белого ростка кроветворения от разрушительного действия химиотерапии, наблюдалось снижение числа нейтропений I-IV степени. Была подтверждена концепция о противораковом действии препарата Панаген, связанном с активацией дендритных клеток мукоза в присутствии раковых антигенов, выбрасываемых в кровь после химиотерапии. В результате проведенной терапии в периферической крови обнаруживался пул перфорин-содержащих Т-киллерных клеток, активированных против раковых антигенов опухоли. Результатом специфической противораковой иммунной активации стало повышение 5-летней безрецидивной выживаемости у пациентов, принимавших препарат (Панаген (n=51) – 53%, плацебо (n=15) – 40%). Среди пациентов с III стадией рака молочной железы пятилетняя безрецидивная выживаемость составила 25 и 52% для групп, принимавших плацебо (n=8) и препарат Панаген (n=25), соответственно. Стадии ШВ и ШС рака молочной железы являются началом генерализации рака с появлением метастазов в региональных лимфоузлах и характеризуется плохим прогнозом. Среди пациентов с ШВ и ШС стадиями пятилетняя безрецидивная выживаемость составила 17% для пациентов, принимавших плацебо (n=6), и 50% для пациентов, принимавших препарат Панаген (n=18). Согласно мировым статистическим данным 5-летняя безрецидивная выживаемость таких больных составляет около 20%. Таким образом, препарат Панаген позволяет одновременно купировать негативные последствия химиотерапии в качестве лейкопротекторного средства и активировать адаптивный противораковый иммунитет, что в результате приводит к повышению уровня 5-летней безрецидивной выживаемости пациентов.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке ООО «Панаген».

## ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ДОФАМИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ И ГЕНОВ ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В ГИППОКАМПЕ У КРЫС С ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КАТАТОНИЕЙ

Рязанова М.А.<sup>1</sup>, Плеканчук В.С.<sup>1,2</sup>, Латышева Т.В.<sup>3</sup>, Алехина Т.А.<sup>1</sup>, Прокудина О.И.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр.ак.Лаврентьева,10, 630090;

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1, 630090;

<sup>3</sup>Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины, Россия, Новосибирск, Тимакова,4, 630060.

[ocean-2006@yandex.ru](mailto:ocean-2006@yandex.ru)

Работа выполнена на крысах линии ГК с генетической кататонией, которую можно рассматривать в качестве модели кататонического синдрома, наблюдаемого при шизофрении, аффективных расстройствах и других заболеваниях. Известно, что дофаминергическая система мозга участвует в развитии кататонии и шизофрении. Кроме того, существует гипотеза, согласно которой изменения в функции глутаматной системы и её взаимодействие с дофаминовой системой лежит в основе психопатологий. Глутамат, являющийся основным возбуждающим медиатором, опосредует свои эффекты через ионотропные и метаботропные глутаматные рецепторы.

**Цель работы:** Исследование экспрессию генов субъединиц *Gria1*, *Grin1*, *Grin2a*, *Grin2b* рецепторов и генов *Grm2*, *Grm3* глутаматных рецепторов, транспортёра *Vglut2* генов *Drd1* и *Drd2* дофаминовых рецепторов, а также содержание дофамина и ДОФУК в гиппокампе у крыс линии ГК.

**Результаты:** Показана низкая экспрессия мРНК *Grm3* и тенденция к повышению экспрессии мРНК *Grin2a* в гиппокампе у крыс линии ГК по сравнению с контрольными крысами WAG. Обнаружена низкая экспрессия мРНК *Drd2* и мРНК *Drd1* в гиппокампе у крыс ГК. Различий по содержанию дофамина и его метаболита – ДОФУК между крысами линии ГК и WAG в исследованной структуре не обнаружено. Дофаминовые рецепторы оказывают влияние на двигательную активность - D1-рецепторы умеренно её стимулирует, пресинаптические D2-рецепторы способствуют снижению двигательной активности. mGlu3 рецепторы преимущественно пресинаптические ауторецепторы оказывающие ингибирующее действие на нейротрансмиссию глутамата. Клиническое применение агониста mGlu2/3 рецепторов, показало положительные результаты при шизофрении в отношении позитивных и негативных симптомов и при тревожном расстройстве [1]. Таким образом снижение экспрессии *Grm3* в гиппокампе у крыс ГК может способствовать реакциям повышенной возбудимости и повышению тревожности у этих крыс. Выявленные изменения по экспрессии мРНК *Drd1*, *Drd2* при отсутствии изменений в содержании дофамина в гиппокампе крыс ГК указывают на важность рецепторного звена в регуляции поведения и могут способствовать проявлению кататонических реакций у крыс ГК.

[1]. Patil S.T., Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: A randomized Phase 2 clinical trial. // 2007., Nat. Med., V.13, P.1102-1107. [2] Arnsten A.F., Catecholamine modulation of prefrontal cortical cognitive function. // 1998. Trends Cogn Sci. V.11, P.436-447.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-04-01631 «а»

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ ИМПРИНТИРОВАННЫХ ГЕНОВ ПРИ ПАТОЛОГИИ РАННИХ ЭТАПОВ ОНТОГЕНЕЗА ЧЕЛОВЕКА

Саженова Е.А., Никитина Т.В., Толмачева Е.Н., Лебедев И.Н.

Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, 634050  
[elena.sazhenova@mail.ru](mailto:elena.sazhenova@mail.ru)

Геномный импринтинг – эпигенетический феномен, вовлеченный в эмбриональное развитие плацентарных млекопитающих и человека. Молекулярные механизмы нарушений импринтинга в основном связаны с аномалиями дифференциального метилирования импринтированных генов. Цель настоящего исследования - определить вклад и причины нарушений импринтированных генов в патологию эмбрионального развития человека.

Показано, что в плацентарных тканях спонтанных абортусов (СА) I триместра беременности от женщин с привычным невынашиванием беременности (ПНБ) в отличие от эмбрионов от женщин с одним СА статистически значимо чаще регистрируются эпимутации импринтированных генов (6,2% и 3,7% на локус, соответственно ( $p < 0,01$ )). Преобладающим типом эпимутаций оказалось постзиготическое гипометилирование импринтированных генов на хромосомах материнского происхождения, составившее в исследованных группах 5,1% и 2,9% на локус, соответственно. Репликативное исследование статуса метилирования импринтированных генов *DLK1*, *PEG10*, *NESP55*, *PLAGL1*, *KCNQ1OT1*, *PEG3*, *GRB10* и *PEG1/MEST* в расширенных выборках эмбрионов подтвердило результаты микрочипового анализа.

Мультилокусность эпимутаций импринтированных генов указывает на возможность существования регуляторных механизмов, контролирующей эпигенетический статус множества импринтированных локусов генома. Поэтому нами была предложена гипотеза о том, что наличие мутаций в гене *NLRP7* может быть причиной формирования множественных эпимутаций в импринтированных генах, являющихся причиной регулярной остановки эмбрионального развития.

Мутации в гене *NLRP7* выявлены только в группе СА от женщин с ПНБ, имеющих нарушенный характер метилирования трех и более импринтированных генов. Анализ родительского происхождения мутаций в гене *NLRP7* в трех доступных семьях показал носительство у обоих супругов мутаций этого гена в гетерозиготном состоянии, наследование которых у СА в компаундном гетерозиготном состоянии может привести к остановке эмбрионального развития. Идентифицированные мутации были унаследованы от отцов, в то время как все выявленные известные полиморфные варианты имели материнское происхождение. Кроме того, у этих эмбрионов, обнаружено герминативное гиперметилирование отцовских аллелей гена *PEG1*. Все это свидетельствует в пользу того, что генетические нарушения *NLRP7* не только в оогенезе, но и при сперматогенезе, могут быть причинами формирования множественных эпимутаций в импринтированных локусах у эмбриона и приводить к остановке эмбрионального развития.

## ГЕНОДИАГНОСТИКА ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИИ С ПОМОЩЬЮ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Салахов Р.Р.<sup>1,2</sup>, Голубенко М.В.<sup>1</sup>, Зарубин А.А.<sup>1</sup>, Глотов О.С.<sup>3</sup>, Алавердян Д.А.<sup>3</sup>,  
Павлюкова Е.Н.<sup>4</sup>, Канев А.Ф.<sup>4</sup>, Назаренко М.С.<sup>1,2</sup>, Пузырев В.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск, ул. Набережная Ушайки, 10;

<sup>2</sup>Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Московский тракт,

<sup>3</sup>СПб ГБУЗ «Городская больница №40», Санкт-Петербург, г. Сестрорецк, ул. Борисова, 9;

<sup>4</sup>Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск, ул. Киевская, 111;

[ramil.salakhov@medgenetics.ru](mailto:ramil.salakhov@medgenetics.ru)

Наследственные кардиологические заболевания характеризуются высокой степенью генетической гетерогенности, и число генов, мутации которых могут приводить к развитию болезни, может достигать нескольких десятков. Одним из наиболее распространенных моногенных кардиологических заболеваний является гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП). Нами проведено секвенирование 46 генов наследственных кардиомиопатий (NGS панель «TruSight Cardiomyopathy», Illumina) у 12 пациентов с диагнозом ГКМП, обследованных в НИИ кардиологии Томского НИМЦ. У 8 пациентов были выявлены потенциально значимые варианты, патогенность которых была оценена в соответствии с рекомендациями по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования [1]. В результате были охарактеризованы 2 мутации в гене *MYH7* (1 новая и 1 описанная ранее), 1 мутация в гене *TNNT2*, 2 варианта неопределенного значения (VUS) в генах *MYBPC3* и *ACTN2*, а также «вероятно патогенный вариант» в гене *MYOZ2*. Кроме того, пациент с мутацией в *TNNT2* имел дополнительный вариант неопределенного значения в гене *DSC2*, 1 пациент имел мутацию в гене *PKP2* (ген аритмогенной дисплазии правого желудочка, или ARVD), и 1 пациент - «вероятно патогенный» вариант в гене *LAMP2* (ген болезни Данона). Таким образом, генетический диагноз был установлен минимум для 50% пациентов, и еще у двоих описаны варианты неопределенного значения, которые также могут быть причиной заболевания. Выявление патогенных вариантов в генах, мутации которых ассоциированы с другими фенотипами (*DSC2*, *PKP2* – ARVD, *LAMP2* – болезнь Данона) показывает, что мутации разных генов могут приводить к развитию одного фенотипа - ГКМП [2,3] и подчеркивает важность проведения дифференциальной диагностики как на клиническом, так и молекулярном уровнях для прогноза развития заболевания у конкретного индивида.

### Литература

[1]. Рыжкова О. П., Кардымон О. Л., Прохорчук Е. Б., Коновалов Ф. А., и др. Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) // 2017, Медицинская генетика, Т.16, № 7, С. 4-17.

[2]. Bainbridge M.N., Li L., Tan Y., Cheong B.Y., Marian A.J. Identification of established arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy mutation in a patient with the contrasting phenotype of hypertrophic cardiomyopathy // 2017, BMC Med Genet, V.18, P. 24.

[3]. Вайханская Т.Г., Сивицкая Л.Н., Даниленко Н.Г., Сидоренко И.В., Давыденко О.Г. Болезнь Данона: редко выявляемое системное заболевание с LAMP2-кардиомиопатией // 2017, Российский кардиологический журнал, №10, С. 93–99.

## ОБОБЩЕННАЯ РЕГРЕССИОННАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ПОИСКА ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПРИЗНАКАМИ ЧЕЛОВЕКА, НА ОСНОВЕ СУММАРНЫХ СТАТИСТИК

Свищёва Г.Р.<sup>1,2</sup>, Белоногова Н.М.<sup>1</sup>, Аксенович Т.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт Цитологии и генетики СО РАН, Россия, 630090 Новосибирск, Проспект ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, 119991 Москва, ул. Губкина, 3

[gulsvi@mail.ru](mailto:gulsvi@mail.ru)

В последние годы наблюдаются быстрое накопление и распространение в открытом доступе огромных массивов суммарных статистик, полученных для различных признаков человека в полногеномных исследованиях ассоциаций. В связи с этим, резко возросла потребность в создании специальных моделей и основанных на них методов статистической обработки таких массивов.

Нами разработана новая обобщенная модель для поиска ассоциаций на генном уровне, позволяющая тестировать взаимосвязь между признаком и генотипами всех маркеров внутри гена, используя суммарные статистики. Эта модель представляет множественную линейную регрессию с фиксированными эффектами, где в качестве зависимых переменных выступают суммарные z-score статистики, вычисленные для каждой пары «маркер–признак», а роль генетических предикторов играют корреляции между генотипами маркеров анализируемого гена. В модель включены весовые функции, контролирующие относительный вклад каждого маркера в тестирование ассоциаций. Новая модель позволяет сокращать число описывающих параметров, сжимая генетические данные разными способами с помощью преобразующей матрицы в зависимости от выбранного метода анализа ассоциаций. Для метода, использующего стратегию анализа главных компонент, преобразующей матрицей служит матрица нагрузок. Для метода, основанного на функциональном анализе данных, такой матрицей является матрица сглаживания, построенная на заданном базисе функций. Для метода коллапсинга, суммирующего все предикторы, – вектор единиц. Таким образом, благодаря преобразующей матрице разработанная модель покрывает широкий класс методов, позволяя комбинировать суммарные z-score статистики, полученные для каждого маркера внутри гена, в объединенную статистику, характеризующую вклад этого гена в контроль признака.

Наиболее популярные методы поиска ассоциаций на уровне гена, разработанные на индивидуальных данных, а именно методы множественной линейной регрессии, анализа главных компонент, функционального анализа данных и коллапсинга, были нами переформулированы в рамках новой модели и реализованы в нашем R-пакете sumFREGAT (<https://cran.r-project.org/web/packages/sumFREGAT/>). Мы аналитически и численно показали, что результаты анализа ассоциаций на генном уровне, выполненного на суммарных статистиках, идентичны результатам, полученным на индивидуальных данных, по которым эти суммарные статистики были вычислены.

Работа была выполнена при поддержке Минобрнауки [0324-2018-0017] и РФФИ [17-29-08003, 18-04-00076, 19-04-00204].

## ПСИХОДЕРМАТОЛОГИЯ: ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОБЩНОСТЬ ПСОРИАЗА И ПАНИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ

Соболев В.В.<sup>1,2</sup>, Корсунская И.М.<sup>1</sup>, Соболева А.Г.<sup>1</sup>, Третьяков А.В.<sup>3</sup>, Климов Е.А.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской Академии Наук», Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Косыгина, д. 4

<sup>2</sup>ФГБУ «Научно-исследовательский Институт Вакцин и Сывороток им. И.И. Мечникова» РАМН, Российская Федерация, 105064, Москва, Малый казённый пер., д.5

<sup>3</sup>Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Российская Федерация, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

<sup>4</sup>ФГБНУ «Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий», Российская Федерация, 127422, Москва, ул. Костякова, д. 12, стр.4

[vlsobolew@gmail.com](mailto:vlsobolew@gmail.com)

Психодерматология изучает связи между кожными и психическими заболеваниями, которые иногда развиваются у одного и того же пациента. Хотя психодерматология только недавно получила признание среди исследователей, связь между дерматологическими и психическими расстройствами впервые появилась в литературе в девятнадцатом веке. Однако до середины двадцатого века не было заметных исследований в области психодерматологии.

Актуальность этой проблемы определяется значительным количеством кожных заболеваний, которые сочетаются с психическими расстройствами. По данным исследователей в 30-40% случаев дерматологические заболевания сопровождаются психическими патологиями. Известны потенциальные молекулярные точки коморбидности псориаза и тревожного расстройства[1].

Цель данного исследования является поиск генов, изменения в которых в виде однонуклеотидных замен приводят в той или иной степени к развитию как псориаза, так и панических расстройств и повышенной тревожности. А также выявление ассоциированных с псориазом сочетаний аллелей исследованных генов (комплексных генотипов).

В работе использована ДНК, выделенная из цельной крови пациентов, с диагнозом псориаз (n=88) и популяционный контроль (n=365). Для генотипирования использовали ПЦР в реальном времени с аллельспецифическими зондами аллель-специфичную ПЦР. В исследование были включены гены, ранее описанные нами как задействованные в патогенезе панического расстройства: *COMT* (rs4680), *DBH* (rs141116007, rs1611115, rs2097629), *CCAR* (rs1800857), *ССКВВ* (rs1805002), *MAOA* (VNTR, длинные повторы, 30 п.н.), *TPH1* (rs1800532), *MIR22* (rs6502892) и *NOS2* (rs2779249, с.-1290G>T, 5'-область) и *NOS3* (rs2070744, с.-813C>T, интрон 1).

Были выявлены две статистически значимые ассоциации с псориазом: генотип GA замены rs4680 гена *COMT* (Fi(p)=1,3E-5;  $\chi^2=19,16$ ,  $p=1,2E-5$ , OR=3,47) и аллель R5VNTR в гене *MAOA* (Fi(p)=2,2E-13;  $\chi^2=53,84$ ,  $p=1,8E-9$ ,  $p=8,56$ ). Для других исследованных замен в генах *CCAR*, *ССКВВ*, *DBH*, *TPH1* и *NOS* не обнаружено связи с псориазом[2,3].

[1]. Klimov E. et al., Psychodermatology: a molecular link between psoriasis and anxiety disorder. // 2018, Acta Dermatovenerol. Alp. Pannonica Adriat., V.27, №4, P.179-183.

[2]. Klimov E. et al., Assessment of the Role of NO Synthase Genes Polymorphisms in the Pathogenesis of Psoriasis. // 2018, J. Adv. Med. Med. Res., V.26, № 4, P.1-6.

[3]. Sobolev V. et al., Polymorphism of dopamine related genes in the light of psychodermatology: Association with psoriasis // 2017, J. Invest. Dermatol., V.137, №10, P.S230.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Тарасенко Н.В.<sup>1,3</sup>, Спирина Л.В.<sup>2,3</sup>, Горбунов А.К.<sup>2</sup>, Усынин Е.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИ медицинской генетики ТНИМЦ, Россия, Томск, Набережная реки Ушайки, 10; НИИ онкологии ТНИМЦ, Россия, Томск, пер. Кооперативный 5; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, Россия, Томск, Московский тракт, 2

[nataly.tarasenko@medgenetics.ru](mailto:nataly.tarasenko@medgenetics.ru)

За прошедшие 10 лет, благодаря интенсивному развитию полногеномных ассоциативных исследований (GWAS) и успешному сотрудничеству международных консорциумов, удалось идентифицировать генетическую «архитектуру» многих многофакторных болезней, в том числе и рака предстательной железы (РПЖ). Проведенные GWAS объясняют около 34% семейного риска РПЖ. Накопленная информация позволяет увеличить точность и мощность получаемых результатов.

Цель исследования - провести обобщенный анализ базы данных GWAS (NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies (GWAS Catalog)) для выявления локусов, ассоциированных с развитием рака предстательной железы по результатам мета-анализов GWAS.

В результате анализа GWAS Catalog выявлено 204 полиморфных варианта, 143 из них локализованы в 147 генах и 61 в межгенных промежутках. Однонуклеотидные полиморфизмы, имеющие внутри генную локализацию были распределены по местоположению следующим образом: 86% располагались в интронах, 5,6% в 3'-UTR, 7,7% в экзонах, 0,7% в регионе сплайсинга). К наиболее «нагруженным» по числу ассоциированных с РПЖ вариантов относятся локусы 6p21.32 (rs3129859, rs3096702, rs3129859, rs9296068), 19q13.2 (rs11672691, rs141799618, rs61088131, rs8102476), 1q21.3 (rs1218582, rs17599629, rs34579442), 1q32.1 (rs1775148, rs4245739, rs76273496), 2p25.1 (rs11902236, rs62106670, rs9287719), 2q31.1 (rs12621278, rs34925593, rs77530448), 8p21.2 (rs11135910, rs1512268, rs2928679), 8q24.21 (rs1447295, rs16901979, rs183373024). Выявлены гены, которые показали ассоциацию с РПЖ в нескольких исследованиях и с разными эндотипами: *ADGRG1*, *ADNP*, *AL357153.1*, *AL358472.5*, *AL590764.1*, *ARHGAP6*, *BCL2L11*, *CASC8*, *CDKN2B-AS1*, *FAM83F*, *FBRSL1*, *GOLPH3L*, *HAUS6*, *HNFI1B*, *HTR3B*, *LARP4B*, *MAD1L1*, *MARCH8*, *MYO9B*, *NEDD9*, *PCAT19*, *PEX14*, *PPFIBP2*, *TBX1*, *TCF4*, *TMPRSS2*, *TNS3*, *TOR1A*, *TRIM31*, *TRIM31-AS1*, *UHRF1BP1*, *XAGE3*. Пятнадцать генов показали ассоциацию с агрессивным течением РПЖ: *BCL2L11*, *TOR1A*, *ADGRG1*, *ADGRG1*, *LARP4B*, *ARHGAP6*, *ARHGAP6*, *TCF4*, *LOC101928059*, *MAD1L1*, *BCL2L11*, *PPFIBP2*, *UHRF1BP1*. Раннее начало РПЖ ассоциировано со следующими генами: *HAUS6*, *FBRSL1*, *MYO9B*, *TOR1A*, *LARP4B*, *FBRSL1*, *AL022068.1*.

Таким образом, клиническая полезность этих вариантов может включать стратегии стратификации риска с целью выявления РПЖ у мужчин с повышенным генетическим риском развития заболевания, а также для адаптации лечения на основе генетического профиля на ранней стадии заболевания.

## АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНОВ КЛЮЧЕВЫХ БЕЛКОВ-ИНДУКТОРОВ T<sub>H</sub>1-АДАПТИВНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА КАК БИОМАРКЕРЫ ИНВАЗИВНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА ЛЕГКИХ

Тараскина А.Е.<sup>1</sup>, Фролова Е.В.<sup>1</sup>, Шадривова О.В.<sup>1</sup>, Филиппова Л.В.<sup>1</sup>, Учеваткина А.Е.<sup>1</sup>, Климко Н.Н.<sup>1</sup>, Васильева Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Северо-Западный Государственный Медицинский Университет им. И.И. Мечникова Минздрава России, Россия, Санкт-Петербург, 191015, ул. Кирочная, д. 41  
[ataraskina@mail.ru](mailto:ataraskina@mail.ru)

Грибы рода *Aspergillus* широко распространены в природе и являются актуальными оппортунистическими патогенами для иммунокомпрометированных пациентов, вызывая угрожающее жизни инфекционное грибковое осложнение – инвазивный аспергиллез легких (ИАЛ). Нарушение иммунных барьеров, ассоциированное с супрессивной терапией, такой как цитостатическая полихимиотерапия (ПХТ), может затрагивать как механизмы врожденного иммунного ответа, так и приобретенного, в частности дифференцировку Т-хелперов (Т<sub>H</sub>). Регуляция эффекторных функций Т-клеток происходит за счет индуцирования цитокинами внутриклеточного сигналинга и трансактивации транскрипционных факторов [1]. Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) генов цитокинов, направляющих дифференцировку Т-клеток, может приводить к их различной экспрессии и/или аффинитету к комплементарным рецепторам на иммунных клетках, увеличивая риск возникновения инфекционных процессов [2].

**Цель исследования** – оценка вклада аллельных вариантов генов ключевых белков индукторов T<sub>H</sub>1 типа адаптивного иммунного ответа в развитие ИАЛ и их влияние на концентрацию сывороточного IP-10 у онкогематологических пациентов.

**Материалы и методы.** В исследование было включено 174 онкогематологических пациента на фоне ПХТ с признаками поражения легких. В I группу было включено 82 пациента с диагностированным «вероятным» ИАЛ в соответствии с критериями EORTC/MSG 2008г (возраст составил от 22 до 77 лет). II группу, сопоставимую по полу и возрасту, составили 92 пациента с исключенным диагнозом «ИАЛ». Аллельные варианты rs4508917, rs56061981 гена *CXCL10*, rs1800629 *TNFα*, rs2430561 *INFγ* были определены методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом. Количество белка IP-10 – с помощью коммерческих наборов ELISA (Cloud-Clone Corp, USA). Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета программы SPSS 21 (IBM, USA).

**Результаты.** Достоверных различий в частоте встречаемости генотипов и аллелей для изучаемых ОНП между группами с ИАЛ и контроля обнаружено не было. В ходе исследования было установлено, что наличие минорного аллеля -1447G (rs4508917) гена *CXCL10* было связано с достоверно большими концентрациями IP-10 в сыворотке крови, когда как аллельные варианты G-135A (rs56061981) не влияли на уровень IP-10 в сыворотке крови, хотя присутствие аллеля А ассоциировалось с незначительным повышением сывороточного хемокина.

**Выводы.** Аллель -1447G (rs4508917) ассоциирован с повышенной секрецией белка IP-10 в сыворотке крови онкогематологических пациентов.

[1]. Dewi I.M.W., van de Veerdonk F.L., Gresnigt M.S. The multifaceted role of T-helper responses in host defense against *Aspergillus fumigatus*. // 2017, J. Fungi, V.3, 55, P.1-17.

[2]. Cunha C., Aversa F., Romani L., Carvalho A. Human genetic susceptibility to invasive aspergillosis // 2013, PLOS pathogens, V.9, Issue 8, e1003434.

## ЧАСТОТА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С АНТРАЦИКЛИН-ОПОСРЕДОВАННОЙ КАРДИОТОКСИЧНОСТЬЮ, У ПАЦИЕНТОК С ОНКОПАТОЛОГИЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Тимошкина Н.Н., Гвалдин Д.Ю., Ратиева А.С., Ващенко Л.Н., Омельчук Е.П.  
ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России, РФ, г.Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63, 344037  
[n\\_timoshkina@mail.ru](mailto:n_timoshkina@mail.ru)

Многочисленные фармакогенетические исследования привели к идентификации генетических полиморфизмов, ассоциированных не только с развитием сердечно-сосудистой патологии, но и повышающих риск развития осложнений вследствие назначения антрациклиновых препаратов, широко применяемых в терапии онкологических заболеваний. Цель данного пилотного исследования - генотипирование пациенток с диагнозом рак молочной железы (РМЖ) на наличие четырех маркеров, для которых описан повышенный риск антрациклин-индуцируемой кардиотоксичности.

*Материалы и методы.* Образцы крови генотипировали на наличие SNP - rs8187710 *ABCC2*, rs11549465 *HIF1A*, rs1333049 *CDKN2A/B* и rs28714259 методом HRM-PCR с последующим секвенированием по Сэнгеру. В исследование вошли 40 пациенток с РМЖ, европеоидного типа, в возрасте до 65 лет, проходивших лечение на базе ФГБУ «РНИОИ».

*Результаты.* Частота встречаемости аллелей составила rs8187710 *ABCC2* – 0,010, rs11549465 *HIF1A* – 0,075, rs1333049 *CDKN2A/B* – 0,258 и rs28714259 – 0,088. По всем полиморфизмам преобладали гетерозиготные генотипы; для гена *CDKN2A/B* были отмечены два гомозиготных генотипа (5%). В 40% случаев идентифицировали wild type генотипы по всем кандидатным SNP. Отметим, что у пациентки гетерозиготной по rs13058338, rs28714259 и гомозиготной по rs1333049 была выявлена кардиопатия после первого курса антрациклинов. Распределение частот аллелей и генотипов генов *ABCC2*, *HIF1A* и rs28714259 в исследованной выборке было аналогичным для европейской популяции, тогда как частоты rs1333049 *CDKN2A/B* значимо различались ( $p < 0,01$ ).

Кроме того в исследованной области гена *HIF1A* были идентифицированы не патогенный полиморфизм rs34005929 (g.50435G>A) и в двух случаях миссенс мутация rs11549467 (g.50457G>A), часто описываемая в связи с повышенным риском развития онкопатологии [1, 2].

*Заключение.* Выявленное в выборке пациенток с РМЖ уникальное распределение частот генетических полиморфизмов, ассоциированных с антрациклин-индуцированной кардиотоксичностью, имеет важное значение для внедрения в клиническую практику новых высокоэффективных прогностических тестов.

[1]. Huang L et al., Association of hypoxia-inducible factor-1 alpha gene polymorphism with renal cell carcinoma susceptibility. // 2018, J Can Res Ther, V.14, P.1105-9.

[2]. Gladek I et al., *HIF1A* gene polymorphisms and human diseases: graphical review of 97 association studies. // 2017, Genes Chromosomes Cancer, V.56(6), P. 439–452.

## АНОМАЛИИ ИНАКТИВАЦИИ X-ХРОМОСОМЫ ПРИ НАРУШЕНИЯХ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА

Толмачева Е. Н.<sup>1,2</sup>, Фонова Е. А.<sup>1,2</sup>, Скрябин Н. А.<sup>1</sup>, Кашеварова А. А.<sup>1</sup>, Павлова К. А.<sup>2</sup>, Затула Л. А.<sup>2</sup>, Лебедев<sup>1,2</sup> И. Н.

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Россия, Томск, ул. Набережная р. Ушайки, 10

<sup>2</sup> Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, Томск, Россия, г.Томск, Московский тракт, 2  
[katetolmacheva35@gmail.com](mailto:katetolmacheva35@gmail.com)

Смещение инактивации X-хромосомы (sXCI – skewed X chromosome inactivation) часто связано с патологическим фенотипом у человека и может возникать по различным причинам, но одной из наиболее вероятных являются летальные мутации или микроструктурные перестройки X-хромосомы, проявляющиеся как вариации числа копий участков ДНК (Copy Number Variations, CNV). Мы проанализировали характер инактивации X-хромосомы (XCI – X-chromosome inactivation) у 205 женщин с невынашиванием беременности (НБ), у 73 спонтанных абортусов с кариотипом 46,XX и в контрольных группах у 97 женщин без проблем с репродукцией и 50 индуцированных абортусов с кариотипом 46,XX с помощью метил-чувствительной ПЦР области САG-повтора гена AR. Во внезародышевой мезодерме контрольной группы эмбрионов выявлена только равновероятная инактивация, тогда как у 15 % спонтанных абортусов наблюдалось смещение этого показателя. Наибольшая частота избирательной инактивации одного из родительских гомологов наблюдалась в группе с отсутствием развитого эмбриона (31 %) и среди эмбрионов от женщин с привычным невынашиванием беременности (54 %). Частота sXCI ( $\geq 80\%$ ) у женщин с НБ была выше, чем у женщин без проблем с репродукцией (18,5 и 5%,  $p=0,05$ ). Частота экстремальной асимметрии ( $\geq 90\%$ ) у женщин с НБ составила 7,5% (15 человек). Мы проанализировали микроструктуру X-хромосом у 13 женщин с sXCI  $\geq 90\%$  с помощью матричной сравнительной геномной гибридизации и у восьми женщин были обнаружены CNV на X-хромосоме. Среди них дубликации в регионе Xq28 размером от 35,77 до 782,7 kb, две частично перекрывающиеся дубликации в Xp22.33 размером 782,7 kb и 1,7 Mb и delXp11.23 размером 52 kb. Кроме того, были обнаружены две делеции в Xq24 размером 239 kb и 36,53 kb. Всего в CNV на X-хромосоме были затронуты 44 гена. Мы провели анализ обогащения этих генов и выявили, что наибольшее число генов в регионах X-сцепленных CNV связано с интеллектуальной недостаточностью ( $p=0,0043$ , гены *RAB39B*, *UBE2A*, *LICAM*, *CLIC2*) и острой лимфоцитарной лейкемией ( $p=0,0007$ , гены *R2RY8*, *CLIF2*). С X-сцепленными формами когнитивного расстройства связаны также гены *GDII* и *CXorf56*. Интересно, что sXCI часто наблюдается у носительниц X-сцепленных форм интеллектуальных расстройств и различных дизморфий. Очевидно, что мутации, затрагивающие гены, отвечающие за пролиферацию и жизнеспособность клетки могут приводить как к нарушениям эмбрионального развития, так и к гибели эмбриона.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 18-015-00437.

## СВЯЗЬ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *NOS2* С РАЗВИТИЕМ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ (I-II СТАДИИ)

Топчиева Л.В.<sup>1</sup>, Балан О.В.<sup>1</sup>, Корнева В.А.<sup>2</sup>, Курбатова И.В.<sup>1</sup>, Малышева И.Е.<sup>1</sup>,  
Панкрасова К.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ КарНЦ РАН ИБ КарНЦ РАН, Россия, Петрозаводск, ул. Пушкинская. 11;

<sup>2</sup>ПетрГУ, Россия, Петрозаводск, пр. Ленина, 33

[topchieva67@mail.ru](mailto:topchieva67@mail.ru)

В настоящее время имеются свидетельства о вовлечении не только эндотелиальной (*NOS3*), но и индуцибельной синтазы оксида азота (*NOS2*) в регуляцию содержания оксида азота в кровяном русле больных артериальной гипертензией [1]. Содержание и активность *NOS2* в клетках определяются не только активацией сигнальных путей под влиянием факторов воспаления, но и могут быть генетически детерминированы [2]. В многочисленных исследованиях показана ассоциация аллельных вариаций гена *NOS3* с развитием сердечно-сосудистых патологий. Однако роль аллельного полиморфизма гена *NOS2* в этиологии и патогенезе этих заболеваний изучена слабо. В связи с этим, нами проведена оценка риска развития эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) (I-II стадии) у носителей разных аллелей и генотипов по -954G>C и rs3730017 (C>T) полиморфным маркерам гена *NOS2*. Обнаружено, что у носителей генотипа CC по -954G>C маркеру риск развития ЭАГ повышен более чем в 2 раза по сравнению с донорами с альтернативными генотипами (ОШ=2,09; 95%ДИ 1,19-3,65). У лиц, имеющих в генотипе аллель Т по rs3730017 риск формирования ЭАГ существенно ниже, чем у носителей CC генотипа (ОШ=0,35; 95%ДИ 0,169-0,721). Выявлены значимые различия в содержании метаболитов оксида азота ( $NO_x$ ) в плазме крови здоровых людей ( $28,33 \pm 2,40$ ;  $38,43 \pm 3,10$  мкМ/л;  $p=0,008$ ) и больных ЭАГ, ( $56,17 \pm 4,7$ ;  $73,47 \pm 5,3$  мкМ/л,  $p=0,0001$ ), носителей GG и GC+CC генотипов по -954G>C маркеру гена *NOS2*, соответственно. Выявлено генотипа по указанному маркеру на содержание нитритов и нитратов в плазме крови (Test statistic = 6,210  $p = 0,0127$ ). Отмечена тенденция к снижению содержания  $NO_x$  в плазме крови здоровых людей и пациентов с ЭАГ, имеющих TT генотип по rs3730017 (C>T). Обнаружена положительная корреляция между содержанием  $NO_x$  в плазме крови и уровнем экспрессии генов *VCAM-1* и *ICAM-1* в лейкоцитах периферической крови (ЛПК) ( $r=0,673$ ;  $r=0,800$   $p<0,05$ , соответственно). Содержание мРНК гена *VCAM-1* в ЛПК здоровых и больных людей с GG генотипом по маркеру -954G>C гена *NOS2* значимо ниже, чем у лиц, имеющих в генотипе аллель C ( $p=0,033$ ;  $p=0,048$ , соответственно). Аналогичные данные по содержанию мРНК гена *ICAM-1* получены в контрольной группе ( $p=0,007$ ). Отмечена тенденция снижения содержания мРНК этих генов у носителей аллеля Т по rs3730017 гена *NOS2*. Полученные результаты свидетельствуют о вовлечении аллельного полиморфизма гена *NOS2* в этиологию и патогенез ЭАГ (I-II стадии).

[1]. Levy A.S., Chung J.C.S., Kroetsch J.T., we Rush J. Nitric oxide and coronary vascular endothelium adaptations in hypertension // 2009, Vasc. Health Risk Manag., V. 5. P. 1075–1087.

[2]. Hobbs M.R., Udhayakumar V., Levesque M.C. et al. A new *NOS2* promoter polymorphism associated with increased nitric oxide production and protection from severe malaria in Tanzanian and Kenyan children // 2002, Lancet. V.360. P. 1468-1475.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОИДАМИ У БОЛЬНЫХ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Федорова Ю.Ю.<sup>1</sup>, Карунас А.С.<sup>1,2</sup>, Савельева О.Н.<sup>1,2</sup>, Гималова Г.Ф.<sup>1</sup>, Мурзина Р.Р.<sup>3</sup>,  
Гатиятуллин Р.Ф.<sup>3</sup>, Эткина Э.И.<sup>3</sup>, Мухтарова Л.А.<sup>3</sup>, Загидуллин Ш.З.<sup>3</sup>, Хуснутдинова  
Э.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Россия, г. Уфа, ул. Проспект Октября, 71;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди,  
32;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» МЗ России, г. Уфа,  
ул. Ленина, 3;

[fedorova-y@yandex.ru](mailto:fedorova-y@yandex.ru)

Бронхиальная астма - распространенное тяжелое и инвалидизирующее многофакторное заболевание. Глюкокортикостероиды (ГКС) являются наиболее эффективными препаратами для лечения хронического аллергического воспаления дыхательных путей. До 50-60% различий в чувствительности к терапии у пациентов с БА обусловлено генетической вариабельностью. Целью нашего исследования явилась оценка значимости полиморфных вариантов генов *NR3C1* (rs41423247), *CRHR1* (rs242939, rs1876828, rs242941), *TBX21* (rs2240017), *GLCC11* (rs37973), *T* (rs2305089), *FBXL7* (rs10044254), *ALLC* (rs11123610), *MAGI2* (rs2691529) в прогнозировании развития и течения БА в группе пациентов, находящихся на терапии ГКС. В работе использованы образцы ДНК 350 больных БА и 287 индивидов контрольной группы, проживающих на территории Республики Башкортостан. Генотипирование полиморфных вариантов генов выполнено методами ПЦР-ПДРФ и ПЦР в реальном времени. Установлено, что генотип *rs41423247 CG* полиморфного варианта *rs41423247C>G* гена глюкокортикостероидного рецептора *NR3C1* ассоциирован со значительным снижением параметров спирометрии (ЖЕЛ, ОФВ1, МОС25 и МОС50) у больных БА. Установлена ассоциация аллеля *rs1876828 T* полиморфного варианта *rs1876828C>T* гена кортикотропин-рилизинг гормона *CRHR1* и аллеля *rs37973 G* полиморфного варианта *rs37973G>A* гена глюкокортикоид-индуцированного транскрипта 1 *GLCC11* со сниженными показателями МОС50 (мгновенной объемной скорости при выдохе 50% ФЖЕЛ). При разделении выборок по этнической принадлежности обнаружено, что генотип *rs41423247 CG* гена *NR3C1* и аллель *rs37973 G* гена *GLCC11* являются маркерами повышенного риска развития бронхиальной астмы у татар. Выявлено, что для башкир маркерами повышенного риска развития заболевания являются генотип *rs242941 CA* полиморфного варианта *rs242941A>C* гена *CRHR1*, гаплотип AA (rs242939, rs242941) гена *CRHR1* и аллель *rs2305089 T* полиморфного варианта *rs2305089C>T* гена транскрипционного фактора *T*. Установлена ассоциация генотипа *rs10044254 AA* полиморфного варианта *rs10044254A>G* гена белка, содержащего лейцин-богатые повторы и F-бокс домен *FBXL7* со значительно сниженными показателями МОС25 у русских с БА. Таким образом, установлена роль полиморфных вариантов генов *NR3C1*, *CRHR1*, *GLCC11*, *T*, *FBXL7* в патогенезе БА, а также в эффективности терапии ГКС у пациентов с БА. Работа выполнена с использованием «Коллекции биоматериалов человека ИБГ УФИЦ РАН» при частичной финансовой поддержке РФФИ № 17-04-02195.

## АНАЛИЗ СПЕКТРА МУТАЦИЙ И ПОИСК НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ ИЗ РОССИИ

Филатова Е.В.<sup>1</sup>, Шадрина М.И.<sup>1,2</sup>, Крылова Н.С.<sup>2</sup>, Дёмкина А.Е.<sup>2</sup>, Сломинский П.А.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН, Россия, Москва, пл. академика Курчатова,  
2; <sup>2</sup> ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Россия, Москва, ул.  
Островитянова, 1  
[filatovaev@img.ras.ru](mailto:filatovaev@img.ras.ru)

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) является самой распространённой формой наследственных болезней сердца, встречающейся в общей популяции с частотой 1:500. Она характеризуется гипертрофией стенки левого и/или изредка правого желудочка. С генетической точки зрения ГКМП является крайне гетерогенным заболеванием с сильно варьирующими пенетрантностью и экспрессивностью. Несмотря на многолетние исследования, до сих пор не выявлены все гены, которые могут быть связаны с патогенезом ГКМП, и как минимум в четверти случаев генетическая основа ГКМП остаётся не выявленной. При этом патогенетическая значимость большинства выявленных при ГКМП мутаций остаётся до конца не выясненной, поскольку очень низкая встречаемость большинства мутаций в популяции и небольшой размер семей не позволяют провести анализ cosegregation в достаточном объёме. У российских больных не описан спектр генов и мутаций, которые вносят вклад в развитие данного заболевания в нашей популяции.

В связи с этим крайне актуальной является изучение генетических факторов, связанных развитием ГКМП в российской популяции. Нами проведено таргетное секвенирование 174 генов (в том числе 8 основных генов ГКМП (*MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, *MYL2*, *MYL3*, *TPM1*, *ACTC2*, *TNNI3*)), для которых показана ассоциация с развитием 17 наследственных болезней сердца. Такое целевое секвенирование ДНК пациентов с ГКМП позволило выявить как спектр патогенетически значимых мутаций в основных генах ГКМП, так и ряд новых вариантов с предполагаемой патогенетической значимостью, характерных для пациентов с ГКМП из России. Кроме того, проведение клинико-генетического анализа позволило оценить вклад отдельных мутаций и генов в формирование клинических признаков при ГКМП.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-015-00322.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ «ПОРТРЕТ» ПНЕВМОНИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОМНОГО И ТРАНСКРИПТОМНОГО ПОДХОДОВ

Хаджиева М.Б.<sup>1,2,3</sup>, Сальникова Л.Е.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, г. Москва, <sup>2</sup>Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФГБНУ "Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии", г. Москва, <sup>3</sup>Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, г. Москва  
[m.had@mail.ru](mailto:m.had@mail.ru)

Пневмония – частая причина развития критических состояний у реаниматологических больных. Возникновение и течение инфекционного процесса генетически детерминировано. Цель работы заключается в составлении молекулярно-генетического «портрета» пневмонии с использованием данных геномных исследований. Были использованы результаты широкогеномных исследований (GWAS) пневмонии, выполненные в популяциях европеоидов. В публикации PMID:28928442 приведены результаты исследования 23 инфекционных заболеваний, включая пневмонию (40600 больных с пневмонией/90039 контроль). Браузер биобанка Великобритании [1] содержит информацию для выборки, включающей 12614 больных с пневмонией и 324585 контрольных образцов. Результаты GWAS проанализированы биоинформатическими методами в комбинации с транскриптомными данными проекта Genotype-Tissue Expression [2] для 383 образцов легочной ткани.

В двух исследованиях пневмонии не выявлено общих однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNPs). Из 421 SNPs (порог отсечения:  $P < 0.001$ , частота минорного аллеля  $\geq 5\%$ ), ассоциированных с пневмонией по данным браузера биобанка Великобритании, вариантов с широкогеномным уровнем значимости ( $P < 5.0E-08$ ) не обнаружено. Среди 1005 SNPs, ассоциированных с пневмонией в публикации PMID:28928442, 177 вариантов с широкогеномным уровнем значимости находятся в *HLA* локусе. Ряд аллелей *HLA* локуса, ассоциированных с пневмонией и являющихся количественными локусами экспрессии (eQTL), характеризуются однонаправленными эффектами: все рискованные (относительно пневмонии) аллели ассоциированы со сниженной экспрессией генов-мишеней в легких, например, *HLA-C*, *SFTA2* и *CCHCR1* (150, 147 и 207 SNPs, соответственно; из них 27 общих), или все, сопряженные со сниженной экспрессией некоторых генов-мишеней, например, *C4A*, *NOTCH* и *PSORS1C1* (291, 152 и 156 SNPs, соответственно; 36 общих) оказывают протективный эффект относительно развития пневмонии. Наибольшее число ассоциаций с наибольшей значимостью отмечено для гена *C4A*. Матрица попарной статистики неравновесия по сцеплению [3] для 36 SNPs, общих для генов *PSORS1C1*, *C4A* и *NOTCH4*, показало высоко значимое сцепление ( $R^2 = 0.511-1.0$ ), это позволяет предположить, что основной ген-мишень – *C4A*, ассоциации для двух других генов могут быть вторичными. Белок, кодируемый геном *C4A*, является фактором местного воспаления. Дальнейший анализ обогащения генов установил разделенную генетическую чувствительность к риску развития пневмонии и нарушению функции легких в тестах исследований легочной функции.

1. McInnes, G., Tanigawa, Y., DeBoever, C. et al. Global Biobank Engine: enabling genotype-phenotype browsing for biobank summary statistics.// 2018, bioRxiv, 304188. The GTEx Consortium. The Genotype-Tissue Expression (GTEx) project.// 2013, Nature Genetics, V. 45(6), P.580-585. doi: 10.1038/ng.2653

2. Machiela MJ, Chanock SJ. LDlink a web-based application for exploring population-specific haplotype structure and linking correlated alleles of possible functional variants.// 2015, Bioinformatics, V.31(21), P.3555-3557. doi: 10.1093/bioinformatics/btv402.

## АНАЛИЗ ГЕНОВ ДЕТОКСИКАЦИИ И РЕПАРАЦИИ ДНК У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ДЕФОРМАЦИЯМИ ПОЗВОНОЧНИКА КАК КРИТЕРИЙ ХАРАКТЕРА ТЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗА ЗАБОЛЕВАНИЯ

Хальчицкий С.Е., Согоян М.В., Виссарионов С.В., Баиндурашвили А.Г.

Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера, Россия, Санкт-Петербург, 196603, Санкт-Петербург, Пушкин, Парковая ул. дом 64-68;

[s\\_khalchitski@mail.ru](mailto:s_khalchitski@mail.ru)

Доля врожденных пороков развития позвоночника в общей структуре деформаций позвоночного столба составляет 3,2%. Ряд подобных аномалий в подростковом возрасте ребенка приводит к тяжелым искривлениям позвоночного столба, нередко сопровождающихся необратимыми неврологическими нарушениями. Основываясь на данных только клинического и лучевого методов исследования, у детей раннего возраста крайне тяжело определить вариант течения врожденной деформации позвоночного столба в процессе дальнейшего роста ребенка. Было проведено молекулярно-генетическое исследование генов детоксикации и репарации у детей раннего возраста с врожденной деформацией позвоночника с целью выявления маркеров прогрессирующего течения врожденного искривления позвоночного столба. Обследовано 200 детей раннего возраста с врожденными деформациями грудного и поясничного отделов позвоночника. Определение полиморфных участков генов-кандидатов проводили методом полимеразной цепной реакции с последующей детекцией гель-электрофорезом ДНК в полиакриламидном геле. Были исследованы полиморфизмы генов *CYP1A1*, *CYP1A2*, *NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *XRCC1*, *XRCC3* и их частотное распределение среди больных с врожденными деформациями позвоночника. У большинства пациентов (83%) имелись неблагоприятные полиморфизмы кандидатных генов в гомозиготном состоянии, причем одновременное носительство нескольких неблагоприятных аллелей у больных с врожденными деформациями позвоночника более чем в два раза превышает данный показатель в контрольной группе. Таким образом, у детей раннего возраста с врожденными пороками развития позвоночника отмечается наличие большего количества неблагоприятных полиморфизмов генов детоксикации и репарации ДНК. Полученные результаты позволяют в определенной степени предполагать характер течения врожденной деформации позвоночника. Однако окончательная оценка и выявление молекулярно-генетических критериев прогрессирующего течения врожденной деформации позвоночника у детей требует дальнейшего исследования.

**Благодарности:** Работа выполнена и профинансирована в соответствии с программой Союзного государства России и Белоруссии «Разработка новых спинальных систем с использованием технологий прототипирования в хирургическом лечении детей с тяжелыми врожденными деформациями и повреждениями позвоночника».

## INSIGHT INTO THE GENETIC ARCHITECTURE OF BACK PAIN FROM LARGE GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY

Tsepilov Y. A.<sup>1,2^</sup>, Freidin M.B.<sup>3^</sup>, Palmer M.<sup>4</sup>, Karssen L. C.<sup>6</sup>, Suri P.<sup>4,5</sup>, Y. S Aulchenko<sup>3,6</sup>, F. Williams MK<sup>3</sup>

1 - Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia; ;

2 -Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;3 – Department of Twin Research and Genetic Epidemiology, School of Life Course Sciences, King's College London, London, UK 4 – University of Washington, Seattle, USA; 5- VA Puget Sound Health Care System, Seattle, USA 6 – PolyOmica, The Netherlands.^MF and YT contributed equally to this work.

[tsepilov@bionet.nsc.ru](mailto:tsepilov@bionet.nsc.ru)

Back pain (BP) is a common debilitating condition with poorly understood pathogenesis. In the majority of cases BP is transient; however, in 10% of cases it develops into a chronic condition, which places a great socioeconomic burden on society. BP shares underlying genetic predisposition with a number of its risk factors including intervertebral disk degeneration, depression and anxiety, educational attainment, obesity and other pain conditions such as chronic widespread pain. The precise genes underlying risk of BP are unknown and large-scale genetic studies of BP and closely related traits are currently limited. We set out to determine genetic loci associated with back pain using a large sample of individuals from the UK Biobank (UKBB) dataset and the Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE) Consortium drawn from cohorts in Europe and the USA.

A total of 350,000 individuals of European ancestry from the UKBB were used in the discovery phase (91,100 cases and 258,900 controls). For replication, we used a combination of the UK Biobank participants of European, African and Asian ancestry not included in the discovery set, and data from the CHARGE (total  $N = 159,070$ ). Conditional and joint analysis was used to find SNPs independently associated with the phenotype. Post-GWAS analyses included LD-score regression, heritability estimates, the analysis of pleiotropy and genetic correlations.

Five genome-wide significant loci were identified after adjusting for genomic control, of which four replicated: rs12310519 ( $p = 3.5e-14$ ), rs7814941 ( $p = 1.8e-11$ ), rs3180 ( $p = 1.7e-11$ ), and rs1865442 ( $p = 3.8e-13$ ). Two loci have been reported previously (rs12310519 near *SOX5*; rs7814941 near *GSDMC/CCDC26*) and two were novel associations with BP (rs1865442 in *C8orf34* and rs3180 in between *SPOCK2* and *CHST3*). All the loci had significant pleiotropic effects on intervertebral disc degeneration and rs3180 had a pleiotropic effect on height. Strong genetic correlation with BP was observed for traits related to demographic factors, smoking and education, obesity-related traits and depression. Independent genetic correlations with BP were revealed for depression, neuroticism, sleep disturbance, overweight, and smoking by partial correlation analysis. We also demonstrated significant enrichment of neurological pathways.

This is the largest GWAS for BP thus far, involving more than 500,000 individuals in total. Apart from identifying two new loci, we provide evidence for pleiotropic effects of genetic factors underlying BP, height, and intervertebral disc issues. We also identified independent genetic correlations between BP and depression symptoms, neuroticism, sleep disturbance, overweight, and smoking. Overall, the results demonstrate extremely complex genetic architecture of back pain that overlaps with genetic composition of psychiatric, anthropometric and socio-demographic risk factors.

**Acknowledgements:** The research has been conducted using the UK Biobank Resource (project # 18219). The authors thank the Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE) Musculoskeletal Working Group for the replication.

## СПИРАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ МУТАЦИОННЫХ ЗАМЕН КОДОНОВ И АМИНОКИСЛОТ

Чарикова Е.В.

*ФГБУН, Институт молекулярной генетики РАН, РФ, г. Москва, 123182, г. Москва, площадь Курчатова 2*

*[Elchar@img.ras.ru](mailto:Elchar@img.ras.ru)*

Однонуклеотидные замены в кодирующей части гена, известные как точечные мутации, обуславливают соответствующие аминокислотные мутационные замещения в белках. К настоящему времени идентифицировано громадное количество однонуклеотидных точечных замен (мутаций), детерминирующих генные наследственные заболевания человека. Анализируя данные, создается впечатление о наличии громадного количества хаотичных мутационных аминокислотных замен. Однако, данные аминокислотные замены возможно генетически запрограммированы и их можно скомпоновать в определенном закономерном циклическом порядке в виде спиральной модели. В каждом кодирующем триplete генетически заложена вероятность однонуклеотидных замен, формирующих теоретически детерминированные, то есть генетически запрограммированные нонеты триплетов. Теоретически генетически запрограммированные мутационные однонуклеотидные замены во всех кодирующих триплетях формируют 549 теоретических вариантов генетических перестановок нуклеотидов (вариаций). Все многообразие мутационных однонуклеотидных замещений в кодирующих триплетях можно связать воедино в определенном взаимосвязанном порядке в виде спирали или вращающейся воронки. Если на место кодонов поместить соответствующие им аминокислоты, то на модели ясно просматривается спиральная модель аминокислотных мутационных замен, отражающих теоретически возможные генетически запрограммированные замены аминокислот. Из этого следует, что все 64 кодона путем однонуклеотидных замен взаимосвязаны между собой и водят хоровод, переходя из одного триплетного состояния в другое, создавая условия для мутационного эволюционного круговорота аминокислотных замен. На месте любой аминокислоты в процессе эволюционного каскада мутаций может оказаться поочередно любая другая аминокислота путем многоступенчатого мутагенеза. Наиболее удачные комбинации близлежащих аминокислотных остатков, возникающие в результате мутационной пересортировки, закрепляются эволюционно и наоборот неудачные генетические комбинации элиминируются, как летальные генетические формы.

## HLA-Cw 06:02 ЗАВИСИМАЯ ПРОЛИФЕРАЦИЯ Т КЛЕТОК БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ НА СОБСТВЕННЫЙ БЕЛОК КЕРАТИН 17

Юнусбаева М.М.<sup>1</sup>, Билалов Ф.С.<sup>2</sup>, Юнусбаев Б.Б.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Россия, Уфа, Пр. Октября, 71

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет, Россия, Уфа, Ленина,

<sup>3</sup> Estonian Biocentre, Institute of Genomics, University of Tartu, 51010, Tartu, Estonia

[milyausha\\_ufa@mail.ru](mailto:milyausha_ufa@mail.ru)

Широко признано, что псориаз является хроническим иммуноопосредованным заболеванием организма, характерным признаком которого является появлением на коже псориатических бляшек. В настоящее время накоплен обширный материал, доказывающий аутоиммунную природу заболевания. Согласно одной из гипотез, в основе развития аутоиммунной реакции при псориазе лежит феномен “молекулярной мимикрии”, который заключается в структурном сходстве собственных белков организма с чужеродными антигенами. В случае псориаза рассматривается гомология кожного белка кератина 17 (K17) с белком M6 *Streptococcus pyogenes*. Ранее было показано, что бета-гемолитические стрептококки могут быть триггерами инициации и обострения псориаза, поскольку стрептококковые суперантигены нарушают иммунную толерантность организма хозяина и увеличивают инфильтрацию активированных иммунных клеток в ткани-мишени. В свою очередь, активированные стрептококковыми суперантигенами иммунные клетки ошибочно распознают собственный белок кожи как чужеродный, тем самым поддерживая и усугубляя воспалительную реакцию.

В этом исследовании мы синтезировали рекомбинантный белок K17 из волосяных фолликул больных псориазом и оценили реакцию Т-клеток на присутствие белка K17. Оказалось, что K17 вызывает пролиферативную активность Т-лимфоцитов больных псориазом, тогда как клетки здоровых индивидов данной активности не проявляли. Подобная реакция говорит о наличии в организме больных псориазом аутореактивных к собственному белку Т - лимфоцитов. Кроме того, был оценен вклад локуса HLA-C в развитие псориаза. Оказалось, что ответ на пролиферацию сильно коррелирует с дозой аллеля HLA-Cw 06:02 и гомозиготные пациенты показывают самый высокий сигнал пролиферации. Результаты нашего исследования позволяют предположить, что белок K17 может выступать в качестве аутоантигена, а генотип риска сильно коррелирует с силой реакции на этот аутоантиген.

Благодарности: Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-04-00972.

## ВЛИЯНИЕ ГОНАДЭКТОМИИ И ЭКЗОГЕННОГО ЭСТРАДИОЛА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРАДИОЛА ТИПА АЛЬФА И БЕТА В ПЕЧЕНИ У САМЦОВ И САМОК МЫШЕЙ

Яковлева Т.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090, проспект Лаврентьева, 10

[tatyana.jakovleva@yandex.ru](mailto:tatyana.jakovleva@yandex.ru)

Известно, что эстрадиол (E2) повышает чувствительность к инсулину и толерантность к глюкозе. Эффекты E2 опосредуют эстрогеновые рецепторы типа альфа и бета (E2Ra и E2Rb), причем E2Rb, в отличие от E2Ra, опосредуют про-диабетогенный эффект эстрадиола. Соотношение типов рецепторов влияет на патогенез метаболического синдрома [1]. Показаны половые различия развития метаболического синдрома при диет-индуцированном ожирении [2], однако влияние пола на соотношение E2Ra и E2Rb в метаболических тканях мало изучено. Целью работы было определить влияние пола, гонадэктомии и экзогенного E2 на уровень экспрессии генов эстрогеновых рецепторов (*Esr1* и *Esr2*) в печени у мышей.

Самцов и самок мышей линии C57BL гонадэктомировали (ГЭ) или ложно оперировали (ЛО) в возрасте 10 недель, через 3 недели животным каждые 24 часа вводили E2 в дозе 1 мкг/животное или растворитель (перорально, 3 инъекции). Через сутки после последней инъекции животных декапитировали после ночного голодания. Методом qPCR оценивали уровень мРНК *Esr1* и *Esr2* в печени, а также определяли уровень глюкозы в крови и E2 в плазме крови.

У ЛО самок уровень E2 был выше, а уровень глюкозы — ниже, чем у ЛО самцов, причем только у самок уровень глюкозы в крови положительно и достоверно коррелировал с уровнем эстрадиола в плазме крови ( $r=0,84$ ). У самок ГЭ незначительно снизила уровень эстрадиола и достоверно повысила уровень глюкозы в крови. У самцов, наоборот, ГЭ достоверно повысила уровень эстрадиола и снизила уровень глюкозы в крови.

У ЛО самок, по сравнению с ЛО самцами, в печени была повышена экспрессия генов рецепторов E2 обоих типов, причем уровень мРНК *Esr1* у самок был сравним с уровнем мРНК *Esr2*, тогда как у самцов уровень мРНК *Esr1* был достоверно выше, чем уровень мРНК *Esr2*.

У самок ГЭ и экзогенный E2 не повлияли достоверно на экспрессию исследованных генов, однако, ГЭ снизила соотношение мРНК *Esr2* : *Esr1*, причем введение эстрадиола его нормализовало. У самцов ГЭ и экзогенный E2 повысили уровень мРНК *Esr1*, но не повлияли достоверно на экспрессию *Esr2* и соотношение мРНК *Esr2* : *Esr1*.

Таким образом, у самок повышение уровня глюкозы в крови после гонадэктомии было ассоциировано со снижением доли мРНК *Esr2*, тогда как у самцов снижение уровня глюкозы в крови после гонадэктомии было ассоциировано с повышением уровня эстрадиола в крови и уровня мРНК *Esr1* в печени. Полученные результаты предполагают, что роль E2Rb в опосредовании эффектов эстрадиола в печени, возможно, зависит от пола животного.

[1]. Hevener A.L., Clegg D.J., Mauvais-Jarvis F., Impaired estrogen receptor action in the pathogenesis of the metabolic syndrome. // 2015, Mol. Cell. Endocrinol., V.418(Pt 3), P.306–321.

[2]. Senthil Kumar S.P., Shen M., Spicer E.G., Goudjo-Ako A.J., Stumph J.D., Zhang J., Shi H., Distinct metabolic effects following short-term exposure of different high-fat diets in male and female mice. // 2014, Endocr. J. V.61(5), P.457-470.

Благодарности: Данная работа была выполнена при поддержке Российского Научного Фонда, грант № 17-15-01036.

## АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ДОФАМИНОВОЙ НЕЙРОТРАНСМИССИИ И ГЕНА *PTPN5* С ШИЗОФРЕНИЕЙ

Пожидаев И.В.<sup>1,2</sup>, Османова Д.З.<sup>1,2</sup>, Бойко А.С.<sup>2</sup>, Вялова Н.М.<sup>2</sup>, Корнетова Е.Г.<sup>2</sup>,  
Иванова С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, Россия, Томск,

<sup>2</sup>Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН НИИ психического  
здоровья, Россия, Томск.

[craig1408@yandex.ru](mailto:craig1408@yandex.ru)

Шизофрения является тяжелым эндогенным психическим заболеванием с неизвестным патогенезом. Наиболее широко в терапии применяются антипсихотические препараты, которые взаимодействуют с дофаминергической системой [1, 2]. В качестве потенциальных генов-кандидатов, в исследовании были выбраны гены дофаминовых рецепторов, а также ген *PTPN5*, который кодирует протеин тирозин фосфатазу с повышенной экспрессией в стриатуме (STEP) и представляет значительный интерес [3].

Цель: исследование ассоциаций полиморфных вариантов генов дофаминовых рецепторов *DRD1*, *DRD2*, *DRD2/ANKK1*, *DRD3*, *DRD4* и гена *PTPN5* у больных шизофренией как потенциальных патогенетических маркеров.

В исследование, после утверждения протокола биоэтическим комитетом, было включено 470 больных шизофренией и 127 здоровых лиц, сопоставимых по половозрастным характеристикам исследуемой группе, этнически русских и проживающих в Сибирском регионе. Средний возраст пациентов составил  $42.1 \pm 12.4$  года, для группы контроля -  $38.5 \pm 13.2$  лет. Для выделения ДНК из крови использовался стандартный фенол-хлороформный метод. Генотипирование 28 полиморфных вариантов генов дофаминовых рецепторов и одного варианта гена *PTPN5* проводилось с помощью MassARRAY Analyzer 4 (Agena Bioscience™) и амплификатора QuantStudio5 (Applied Biosystems, USA). Статистический анализ проводился в программе SPSS 17.0.

Результаты. Все полученные результаты были проверены на соответствие распределению по закону Харди-Вайнберга в качестве первичной проверки. Для большинства полиморфных вариантов генов дофаминовых рецепторов были получены отрицательные результаты, свидетельствующие об отсутствии статистически значимых ассоциаций с шизофренией. Однако, для полиморфного варианта rs3773678 гена *DRD3* была выявлена статистически значимая ассоциация с шизофренией ( $\chi^2 = 4.940$ ,  $p = 0.030$ ). Установлено, что аллель С обладает протективным эффектом (OR=0.53, [95% CI: 0.30 - 0.94]), а аллель Т обладает предрасполагающим эффектом (OR=1.88, [95% CI: 1.07 - 3.29]).

Для rs4075664 гена *PTPN5* были выявлены ассоциации для аллелей ( $\chi^2 = 3.84$ ,  $p = 0.05$ ). Данные значения достигают, но не пересекают уровень значимости, что не позволяет сделать однозначный вывод о роли исследуемого полиморфного варианта в патогенетических процессах при шизофрении.

Ассоциация rs4075664 гена *PTPN5* с шизофренией выявлена впервые, в отношении генов дофаминовых рецепторов на популяции больных Сибирского региона наши результаты подтверждают литературные данные.

[1] Ivanova S.A., Osmanova D.Z., Boiko A.S. et al. Prolactin gene polymorphism (-1149 G/T) is associated with hyperprolactinemia in patients with schizophrenia treated with antipsychotics // 2016, Schizophrenia Research, V.182, P.110-114.

[2]. Haddad, P.M., Corell C.U. The acute efficacy of antipsychotics in schizophrenia: a review of recent meta-analyses // 2018, Ther Adv Psychopharmacol., V.8, №11, P.303-318.

[3]. Xu J., Chatterjee M. et al. Inhibitor of the tyrosine phosphatase STEP reverses cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease // 2014, PLoS Biol., V.12.

**Благодарности:** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ 18-315-20019 «Новые подходы к генетике клинического полиморфизма и нейрокогнитивного дефицита при шизофрении» (2018-2019) и в рамках блока Интеграционного проекта СО РАН №30 «Комплексный подход для создания антипсихотиков нового поколения» (2018-2020).

## ВЛИЯНИЕ МАТЕРИНСКОГО ЛЕПТИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ В ПЕЧЕНИ И МОЗГЕ ПЛОДОВ РАЗНОГО ПОЛА У МЫШЕЙ

Денисова Е.И.,<sup>1</sup> Макарова Е.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева 10  
[elena\\_nsib@list.ru](mailto:elena_nsib@list.ru)

Здоровье особей зависит от условий их внутриутробного развития. Уровень гормона жировой ткани лептина повышается при ожирении и беременности. Показано, что материнский лептин противодействует развитию ожирения и нарушениям углеводного обмена у потомства, причем эффекты лептина могут зависеть от пола потомства. Пути влияния материнского лептина на метаболизм потомства мало изучены. Рецепторы к лептину обнаружены в мозге и других органах плода. Это позволяет предположить, что лептин может влиять на экспрессию генов у плодов напрямую либо через влияние на метилирование ДНК.

Задача: изучить влияние материнского лептина на экспрессию генов, кодирующих факторы роста (IGF1, IGF2, IGF2R) и ДНК- метилтрансферазы (метилирование ДНК *de novo* – DNMT3a, DNMT3b) в печени и генов, вовлеченных в регуляцию обмена энергии (NPY, AgRP, POMC, MCR4), в мозге плодов разного пола в конце беременности у мышей.

Оценивали влияние хронически повышенного уровня лептина во время беременности (генетическая модель, мыши с мутацией “yellow” (Ay) в локусе агути), краткосрочного (в течение трех дней) введения лептина в середине беременности и однократного введения лептина в конце беременности на экспрессию генов в мозге и печени плодов в конце беременности (17 день).

Введение лептина в середине беременности повышало экспрессию генов DNMT3a, DNMT3b в печени плодов, в большей степени у плодов мужского пола. Введение лептина в середине беременности и хроническая гиперлептинемия сопровождались повышением экспрессии *Igf1* в печени плодов, причем в большей степени у плодов женского пола, при этом непосредственного влияния введения лептина (17 день беременности) на экспрессию этого гена в течение 7 часов не наблюдалось. Возможно, лептин оказывает отсроченное зависящее от пола плодов влияние на процессы метилирования ДНК в печени плодов, что, может объяснять половые различия по экспрессии генов (в том числе, гена IGF1), возникающие под влиянием материнского лептина. Введение лептина в конце беременности повышало экспрессию *Mcr4* в мозге плодов женского пола и экспрессию *Igf2R* в печени плодов мужского пола.

Т.о., зависящее от пола программирующее влияние материнского лептина на метаболизм потомства может осуществляться через его влияние на процессы метилирования ДНК и экспрессию ростовых факторов в фетальной печени, а также через влияние на становление центральных систем регуляции энергетического гомеостаза у плодов.

Работа поддержана РФФИ, проект № 17-04-01357 и бюджетным проектом № 0324-2019-0041

## ПОИСК И АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ПЕПТИДЕ АБЕТА-42 ЧЕЛОВЕКА, ВЛИЯЮЩИХ НА НУКЛЕАЦИЮ АМИЛОИДА

Маликова О.А.<sup>1</sup>, Зобнина А.Е.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9, 199034; <sup>2</sup>Georgia Institute of Technology, USA, Atlanta, GA 30332-2000

[oks\\_malik@mail.ru](mailto:oks_malik@mail.ru)

Амилоидозы – это заболевания, характеризующиеся агрегацией белков аномальной укладки и их отложением в различных тканях и органах организма. Одним из наиболее известных амилоидозов является болезнь Альцгеймера - нейродегенеративное заболевание, развивающееся преимущественно у людей пожилого возраста и ставшее одной из главных причин смертности в развитых странах. При болезни Альцгеймера наблюдается патологическое накопление пептида амилоида бета (преимущественно изоформы Abeta-42), образующегося в результате протеолитического процессинга белка APP (Amyloid Precursor Protein). Пептид Abeta может образовывать олигомеры и большие скопления («бляшки») амилоидного типа. В соответствии с наиболее общепринятой моделью болезни Альцгеймера, амилоидная мультимеризация Abeta запускает процессы, которые, в конечном счёте, приводят к гибели нейронов. В настоящее время механизмы, приводящие к индукции мультимеризации (нуклеации) Abeta, изучены недостаточно. Мутационный анализ является эффективным подходом для проверки способности Abeta-42 к нуклеации амилоидов *in vivo*, но его трудно вести в клетках человека из-за отсутствия легко тестируемых фенотипов.

В данной работе для исследования нуклеации пептида Abeta-42 применялась дрожжевая тест-система, использующая химерные конструкции Abeta-42 и прионного домена дрожжевого белка Sup35 (фактора терминации трансляции). Эта система позволяет выявлять нуклеацию пептида Abeta-42 фенотипически в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, через прионизацию и снижение функции полноразмерного белка Sup35 [1]. Мы получили библиотеку мутантных последовательностей, кодирующих Abeta-42 и идентифицировали миссенс-мутации (одиночные и множественные), снижающие нуклеацию амилоидов Abeta-42 в дрожжах. Будут представлены данные биохимического и цитологического анализа механизмов эффекта этих мутаций на процесс нуклеации амилоида и рассмотрены модели, связывающие эффекты мутаций со структурой амилоида Abeta-42.

Благодарности: Данная работа была выполнена при поддержке проекта 15.61.2218.2013 (СПбГУ) и при помощи РЦ «ЦКП ХРОМАС» и «РМиКТ» СПбГУ.

[1] Chandramowliswaran P. et al., Mammalian amyloidogenic proteins promote prion nucleation in yeast. // 2018, J. Biol. Chem. V. 293(9), P.3436-3450.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА НА ЛИНИЯХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Малахова А.А.<sup>1,2,3,4</sup>, Маланханова Т.Б.<sup>1,2,3,4</sup>, Григорьева Е.В.<sup>1,2,3,4</sup>, Сульдина Л.А.<sup>1</sup>,  
Морозова К.Н.<sup>1</sup>, Киселева Е.В.<sup>1</sup>, Закиян С.М.<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. ак. Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, Новосибирск, ул. Речкуновская, 15; <sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН), Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 8; <sup>4</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

[amal@bionet.nsc.ru](mailto:amal@bionet.nsc.ru)

Болезнь Хантингтона — это аутосомно-доминантное нейродегенеративное заболевание, обусловленное экспансией тринуклеотидных повторов CAG в первом экзоне гена *HTT* (*Huntingtin*). Экспрессия мутантного аллеля приводит к формированию в клетке токсичной формы белка mHTT, имеющей удлинённый полиглутаминовый тракт (свыше 35 а.о.) и изменённые биохимические свойства, в частности, склонность к агрегации. Однако имеется мало данных о связи экспрессии и накопления mHTT в клетках с нейродегенеративными изменениями в специфических областях головного мозга. Нейродегенеративные расстройства с трудом поддаются изучению из-за ограниченной доступности материала и позднего начала клинического проявления. Клеточные модели на основе плюрипотентных клеток человека предоставляют хорошую возможность для изучения молекулярных механизмов развития патологии, т. к. позволяют получать любые типы клеток организма, в том числе нейроны и астроциты. Нами была создана клеточная модель болезни Хантингтона с использованием технологии CRISPR/Cas9, где удлинённый тракт повторов CAG (от 39 до 150 повторов) был внесён в исходно «здоровые» клетки. Показано, что мутантные клоны демонстрируют повышенный уровень апоптоза и снижение пролиферативной активности по сравнению с изогенным «здоровым» контролем. Электронномикроскопический анализ дифференцированных нейральных производных выявил массовое повреждение митохондрий в результате слияния с ними мелких аутофагосом, число которых, существенно увеличивалось в клетках, несущих мутации в гене *HTT*. Параллельно с этим регистрировалась высокая активность аппарата Гольджи, а также присутствие в цитоплазме филаментоподобных агрегатов вокруг амилоидоподобных включений и крупных аутофагосом. Полученные данные в совокупности свидетельствуют о высокой степени патологических нарушений структурно-функциональной организации мутантных клеток. Созданные клеточные модели удобны для изучения молекулярных механизмов развития болезни Хантингтона *in vitro* и будут полезны в фармакологических исследованиях для проведения масштабных скринингов потенциальных лекарственных препаратов.

Работа поддержана грантом РФФ № 16-15-10128.

**Симпозиум X: Селекция и биотехнология растений / Symposium X: Plant  
Biotechnology and Breeding****ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА АМПЕЛОГРАФИЧЕСКОЙ  
КОЛЛЕКЦИИ ДАГЕСТАНСКОЙ ОПЫТНОЙ СТАНЦИИ ВИР ПО  
РЕЗУЛЬТАТАМ МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО АНАЛИЗА**

Агаханов М. М.<sup>1</sup>, Волков В. А.<sup>1</sup>, Кислин Е.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр, Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, Большая Морская ул., 42  
[gt-06.01.2015@yandex.ru](mailto:gt-06.01.2015@yandex.ru)

В ампелографической коллекции филиала Дагестанская опытная станция ВИР (ДОС ВИР) сохраняются образцы 320 сортов культурного и 25 экотипов дикорастущего винограда, включающие как староместные дагестанские сорта, так и сорта западноевропейского и азиатского происхождения. В коллекции также присутствуют образцы дикорастущих видов *Vitis*, собранные в экспедициях ВИР по Кавказу. До сегодняшнего дня не проводилось исследований, направленных на анализ генетической структуры этой коллекции и ее генетического разнообразия.

Геном *Vitis vinifera* L. содержит множество полиморфных микросателлитных локусов, аллельное разнообразие которых может быть использовано для выявления генетической структуры коллекций, а также идентификации дублетов. В задачу настоящего исследования входило оценить уровень генетического разнообразия коллекции винограда *V. vinifera*, сохраняемой на ДОС ВИР, включая оценку полиморфизма микросателлитных локусов у образцов разных эколого-географически групп – западноевропейской, восточной и бассейна Черного моря. В анализ также были включены образцы других видов - *V. riparia* Michx., *V. × doaniana* Munson, *V. rubra* Michx., *V. solonis* Planch, *Ampelopsis* MICHX., *V. Labrusca* L., *V. silvestrii* Pamp., *V. rupestris* Scheele, *V. palmata* Vahl. присланные в разные годы в ВИР из-за рубежа и поддерживаемые в коллекции Крымской опытной станции ВИР. Генетические кластеры, полученные по результатам генотипирования коллекции 13 микросателлитными маркерами, соотнесены с их принадлежностью к эколого-географическим группам.

## СОЗДАНИЕ ЗАСУХОУСТОЙЧИВЫХ СОРТОВ РИСА

Аксенов А.В., Костылев П.И., Краснова Е.В.

ФГБНУ «АНЦ «Донской», Россия, Зерноград, Научный городок, 3

[aleksandraksenov774@gmail.com](mailto:aleksandraksenov774@gmail.com)

Выведение засухоустойчивых высокоурожайных сортов имеет большое значение, поскольку на юге России значительные площади подвержены засухе и в отдельные годы воды на рисовых оросительных системах не хватает. Цель этого эксперимента состояла в использовании источников засухоустойчивости для переноса гена DR (drought-resistant) на генетическую основу реципиентных родительских сортов Раздольный, Боярин и Командор.

С развитием современной молекулярной биологии, молекулярной генетики и функциональной геномики гены DR получают все больше внимания. Для идентификации генов широко используются два подхода.

Первый – основанная на картировании идентификация генов при анализе гибридных популяций от скрещивания устойчивых и чувствительных к засухе родительских форм на двух фонах увлажнения и генотипирование с помощью молекулярных маркеров. Анализ связей приводит к идентификации генов засухоустойчивости (QTL) [1].

Второй – создание и скрининг засухоустойчивых мутантов. На основании показателей DR и изменений последовательности генов идентифицируются гены-кандидаты и проводится их функциональная проверка. В настоящее время существует большое количество сообщений о DR генах/QTL и сцепленных молекулярных маркерах [2]. Ген засухоустойчивости был интрогрессирован в новые селекционные линии.

В лаборатории риса АНЦ «Донской» была изучена коллекция ВИР, из которой выделены суходольные формы, устойчивые к дефициту влаги: Чан-Чунь-Ман, Дин Сян, Суходольный, Белый СКОМС Ан-Юн-Хо, Золотые всходы, Контро, Хун-Мо, Маловодотребовательный, Н-561. От их скрещивания с сортами донской селекции Раздольный, Боярин и Командор получены гибриды по 28 комбинациям скрещивания и линии риса, пригодные для выращивания в условиях периодического орошения. После многократных отборов рекомбинантных форм лучшие линии были оценены в контрольном питомнике. Их урожайность, как правило, была на уровне стандартов в обычных условиях, но значительно выше при засухе. Образец 9497 (Чан-Чунь-Ман х Боярин) в среднем за 6 лет показал урожайность 7,57 т/га, что выше стандарта Боярин на 0,57 т/га. Образец 5782/2015 (Командор х Чан-Чунь-Ман) сформировал 8,52 т/га зерна (+0,86 т/га к стандарту). Это показывает возможность улучшить селекцию высокоурожайных и засухоустойчивых сортов риса в России.

Ведется совместная работа с ВНИИ орошаемого земледелия (Волгоград), где ежегодно проводится агроэкологическое испытание перспективных линий риса при орошении дождеванием и были созданы сорта Волгоградский и Суходол.

[1]. Zou G.H., Screening for drought resistance of rice recombinant inbred populations in the field // 2007, Journal of Integrative Plant Biology, 49, P.1508–1516.

[2]. Pennisi E. The blue revolution, drop by drop, gene by gene // 2008, Science, 320, P.171–173.

## ОЦЕНКА ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ И СТАБИЛЬНОСТИ СОРТОВ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ МЕЖСТАНЦИОННОГО СОРТОИСПЫТАНИЯ

Брагин Р.Н. Филиппов Е.Г. Донцова А.А.

ФГБНУ АНЦ «Донской», Россия, г. Зерноград, Научный городок, 3

[braginroman40@ya.ru](mailto:braginroman40@ya.ru)

Яровой ячмень является одной из главных зернофуражных культур России. Кроме того, яровой ячмень широко применяется в промышленности, особенно, в пищевой. Это обуславливает широкое использование ячменя в сельском хозяйстве.

Для современного сельского хозяйства востребованы сорта, не только высокоурожайные, а так же имеющие широкий уровень адаптивности, устойчивые к полеганию и вредоносным болезням, , способные противостоять абиотическим стрессам. Для данной цели проводился анализ экологической пластичности и стабильности сортов ярового ячменя межстанционного сортоиспытания. В исследовании использовались 10 сортов ярового ячменя при стандарте Ратник, в двукратной повторности за 2016 – 2018 годы. Анализ выполнен по методике S. A. Eberchart, W. A. Russel (1966) в редакции В. А. Зыкина, с применением программ для статистической обработки Excel и Statistica 10.

На урожайность, сформированную за годы исследований (2016–2018 гг.), огромное влияние оказал фактор год – 94,9%, факторы сорт – 3,4%, и их взаимодействие – 1,7% практически не оказали влияния за данный период времени. Высокое значение фактора год по отношению к другим факторам выражено тем, что за годы исследования под воздействием условий внешней среды урожайность сильно варьировала.

Для выявления реакции урожайности сортов на изменение условий выращивания, рассчитан коэффициент линейной регрессии сортов  $b_i$ . Сорта Грейс ( $b_i = 1,32$ ), Грис ( $b_i = 1,21$ ) и Приазовский 9 ( $b_i = 1,16$ ) выделились высокой отзывчивостью на улучшение условий выращивания. В условиях стресса они снижает свою урожайность по отношению к другим сортам. Сорта Сокол ( $b_i = 1,01$ ), Леон ( $b_i = 1,07$ ), Вакула ( $b_i = 9,4$ ) и KWS-Thessa ( $b_i = 1,04$ ) дают стабильный урожай при различных условиях выращивания, подстраиваясь под изменяющиеся абиотические факторы. Сорт Одесский 22 ( $b_i = 0,43$ ) обладает низкой отзывчивостью на изменение условий среды, что обуславливается наибольшей отдачей при минимальных затратах.

При анализе коэффициента стабильности, было выявлено: наиболее стабильным был сорт Грис ( $\sigma^2d = 0,00$ ), а самым нестабильным сорт Одесский 22 ( $\sigma^2d = 1,94$ ). Остальные сорта занимали промежуточное положение ( $\sigma^2d = 0,03 - 0,88$ ).

Таким образом, оценка экологической пластичности позволила выделить отзывчивые и стабильные сорта ярового ячменя к условиям внешней среды. Сорта Грис, Грейс и Приазовский 9 выделились высокой отзывчивостью на улучшение условий выращивания.

## НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ – ПРОДУЦЕНТОВ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА БЫКА

Бурлаковский М.С., Емельянов В.В., Савельева Н.В., Носова К.И., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, лаборатория геной и клеточной инженерии растений.

Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9.

[burmish@yandex.ru](mailto:burmish@yandex.ru)

Интерфероны (ИФН) относятся к цитокинам II класса, представлены гликопротеидами различной молекулярной массы и являются мощными стимуляторами иммунной системы против патогенов различной природы. Применение подобных препаратов-иммуномодуляторов для профилактики инфекционных заболеваний в животноводстве может иметь существенные преимущества по сравнению с традиционными антибиотиками и противовирусными средствами, поскольку, в частности, позволяет избежать формирования резистентности у патогенов.

В лаборатории геной и клеточной инженерии растений кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ ранее методом агробактериальной трансформации были получены трансгенные растения табака, синтезирующие бычий гамма-интерферон [1]. В ходе отбора были созданы две линии (В6 и 311), демонстрировавшие стабильное наследование и экспрессию привнесенного гена, а также присутствие в тканях целевого белка, обладающего биологической активностью. Установлено, что экстракт растений линии 311 содержит больше целевого белка и проявляет лучшую противовирусную активность, нежели экстракт растений линии В6. Для объяснения данных различий был проведен анализ структуры Т-ДНК вставки обеих линий. Обнаружено, что в случае линии В6 чужеродный фрагмент встроился в геномную ДНК предположительно в районе центральных повторов, в случае линии 311 – в транскрипционно активный район генома. Также установлено, что в случае линии 311 Т-ДНК встройка имеет сложную структуру и состоит из трех полноразмерных копий в ориентации «хвост к хвосту – голова к хвосту». Согласно литературным данным, в подобном случае следовало ожидать снижения продуктивности вследствие сайленсинга [2], однако, по всей видимости, расположение вставки в транскрипционно активном районе генома перевешивает негативный эффект множественных копий.

Полученные растения-производители демонстрируют принципиальную возможность синтеза биологически активного интерферона животных в растительных клетках, но непригодны для коммерческого использования в силу токсичности растений табака и малого содержания целевого белка в тканях. Для дальнейших экспериментов были созданы трансгенные конструкции, в которых ген интереса находится под контролем корнеспецифического промотора *pSRD1*, вдесятеро более эффективного и гораздо менее подверженного сайленсингу, нежели использованный ранее промотор вируса мозаики цветной капусты *p35S* [3].

[1]. Савельева Н.В., Бурлаковский М.С., Емельянов В.В., Лутова Л.А. Трансгенные растения – производители веществ медицинского и ветеринарного назначения // Экологическая генетика, 2015, Т.8, № 2, С. 77-99.

[2]. Логинова Д.Б., Шумный В.К., Дейнеко Е.В. Особенности организации Т-ДНК-встройки у трансгенных растений табака линии NU 21 // Вестник ВОГиС, 2010, Т. 14, № 1, С. 134-140.

[3]. Noh S.A., Lee H.S., Huh G.H., Oh M.J., Paek K.H., Shin J.S., Bae J.M. A sweetpotato SRD1 promoter confers strong root-, taproot-, and tuber-specific expression in Arabidopsis, carrot, and potato // Transgenic Research, 2012, V. 2, No. 2, P. 265-278.

Благодарности: Данная работа была выполнена при поддержке программы развития Санкт-Петербургского государственного университета (проект 1.38.229.2014).

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛОКУСОВ, СВЯЗАННЫХ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ КАРТОФЕЛЬНОГО КРАХМАЛА К ГИДРОЛИЗУ ФЕРМЕНТОМ $\alpha$ - АМИЛАЗОЙ

Гвоздева Л.М.<sup>1</sup>, Розанова И.В.<sup>1,2</sup>, Хлесткин В.К.<sup>1,3</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск;

<sup>2</sup> ВИР, Россия, Санкт-Петербург;

<sup>3</sup> СПБФ ФГАНУ НИИХП, Россия, Санкт-Петербург.

[ungersy@mail.ru](mailto:ungersy@mail.ru)

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является значимой сельскохозяйственной культурой, а получение картофельного крахмала с заданными свойствами важно и актуально как для его промышленной биотехнологической переработки, так и для разработки диет для снижения/поддержания веса и для лечения/профилактики ряда заболеваний (сахарный диабет, болезнь Бехтерева, болезнь Крона, ожирение) [1]. При этом устойчивый к перевариванию (гидролизу) в тонком кишечнике крахмал рассматривается как пищевые волокна для питания полезных бактерий в толстом кишечнике. Соответственно, установление связей между определенными локусами и ДНК-маркерами для дальнейшей селекции картофеля по признаку «устойчивость крахмала» крайне важна и влияет на использование картофельного крахмала в сельском хозяйстве, перерабатывающей промышленности и медицине.

До настоящей работы связь генотипа картофеля усвояемостью и устойчивостью производимого из него крахмала оставалась практически неизученной. За счет идентификации полиморфных вариантов генома (например, SNP), ассоциированных с этими свойствами, можно разрабатывать технологии ускоренного получения сортов картофеля для диетического питания. Цель данной работы – выявление локусов, связанных с устойчивостью и усвояемостью клубневого крахмала картофеля (*Solanum tuberosum* L.).

Из 90 сортов и гибридов картофеля из коллекции «ГенАгро» ИЦиГ СО РАН нами получены образцы крахмала, которые были исследованы на устойчивость к перевариванию, моделируемому гидролизом ферментом  $\alpha$ -амилазой. Выявлены контрастные формы с низкой (40-52%) и высокой (до 99%) устойчивостью. Из клубней тех же сортов была выделена ДНК для SNP-генотипирования, необходимого для дальнейшего полногеномного анализа ассоциаций «генотип-фенотип» (GWAS). Генотипирование проводилось на SNP-чипе (22K Illumina Potato SNP-array). Данные обрабатывались при помощи программ Microsoft Excel, Tassel 5 и пакета R. С помощью модели GLM (Generalized Linear Model) обнаружена значимая ассоциация с SNP в районе, локализованном на хромосоме 5, что, по-видимому, отражает участие этой хромосомы в формировании устойчивости картофельного крахмала к перевариванию амилазой. Проводится дальнейшее исследование выявленного геномного района, нацеленное на выявление гена-кандидата и разработку удобного ПЦР-маркера для ускоренной селекции картофеля с разной усвояемостью крахмала.

[1]. Nugent A.P. Health properties of resistant starch. // 2005, Nutr. Bull., N 30, P. 27–54.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект № 17-29-08006).

## ОБОГАЩЕНИЕ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ АНТОЦИАНАМИ ЗА СЧЕТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НОВЫХ ФОРМ ПШЕНИЦЫ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ АНТОЦИАНОВ

Гордеева Е.И.<sup>1</sup>, Генералова Г.В.<sup>1</sup>, Н.И. Усенко<sup>2</sup>, О.И. Стабровская<sup>3</sup>, И.Б Шарфунова<sup>3</sup>, Ю.С. Отмахова<sup>2</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лавреньева, 10

<sup>2</sup>НГУ, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 2;

<sup>3</sup>КемТИПП, Россия, Кемерово, пр. Строителей, 47;

<sup>4</sup>ВИР, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44

[elgordeeva@bionet.nsc.ru](mailto:elgordeeva@bionet.nsc.ru)

В настоящее время возрастает интерес к производству функциональных и диетических пищевых продуктов для ежедневного рациона, будущая питательная ценность и состав которого может закладываться еще на этапе создания сорта. К таким видам пищевого сырья можно отнести зерно мягкой пшеницы с повышенным содержанием антоцианов. Известно, что антоцианы являются природными антиоксидантами, также могут препятствовать возникновению диабета II типа и тормозят старение организма. В государственном реестре селекционных достижений не зарегистрировано сортов мягкой пшеницы, из зерна которых могут производиться продукты, содержащие антоцианы. Для ускоренного введения в современные сорта пшеницы генов, контролирующих антоциановую окраску перикарпа зерновки, известны диагностические ДНК-маркеры, с использованием которых можно вдвое ускорить процесс отбора по сравнению с отбором на основе биохимической или фенотипической оценки. С использованием модельных изогенных линий, различающихся небольшим участком хромосомы 2А, содержащим ген *Pp3/TaMyс1* - регулятор биосинтеза антоцианов в перикарпе, получены хлебобулочные изделия, рецептура которых включает добавление отрубей (после размола зерна, антоцианы, синтезирующиеся в перикарпе, оказываются в отрубях), и произведена их сравнительная оценка. Продукция из зерна, обогащенного антоцианами, не уступала, а в некоторых случаях даже превышала хлебопекарные и органолептические параметры изделий из зерна контрольной линии. Выявлена устойчивость антоцианов к технологической обработке – они не разрушаются при выпечке. Также установлено, что изделия, содержащие антоцианы, лучше хранятся по сравнению контрольными, которые антоцианов не содержат.

## ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ЛОКУСА *Blp*, КОНТРОЛИРУЮЩЕГО ФОРМИРОВАНИЕ ПРИЗНАКА ЧЁРНОЙ ОКРАСКИ КОЛОСА ЯЧМЕНЯ (*Hordeum vulgare* L.)

Глаголева А.Ю.<sup>1</sup>, Шмаков Н.А.<sup>1</sup>, Мурсалимов С.Р.<sup>1</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,2</sup>, Шоева О.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44

[glagoleva@bionet.nsc.ru](mailto:glagoleva@bionet.nsc.ru)

У ячменя (*Hordeum vulgare* L.) описан признак черной окраски колоса, обусловленный синтезом полифенольных соединений меланинов в цветковой чешуе и в перикарпе зерна. Сообщалось о взаимосвязи данного признака с повышенной устойчивостью растений ячменя к фузариозу, а также к неблагоприятным условиям внешней среды (засуха, пониженная температура). Тканеспецифическое образование меланиновых пигментов в колосе контролируется моногенно. Соответствующий локус *Blp* (*black lemma and pericarp*) был картирован на длинном плече хромосомы 1Н. В данном локусе были идентифицированы 40 генов-кандидатов [1], однако ни один из генов, вовлеченных в формирование признака черной окраски, до сих пор не выделен.

Целью данного исследования является сравнительная характеристика почти изогенных линий ячменя, различных по локусу *Blp*, для выявления потенциальных генов-кандидатов данного локуса. Для работы нами были выбраны почти изогенные линии ячменя: неокрашенный сорт Bowman (Bw) и черноколосая линия i:Bw*Blp*.

В работе была проведена сравнительная морфометрическая характеристика, а также цитологический анализ развивающегося зерна и транскриптомный анализ чешуй колоса и перикарпа зерна данных линий.

Было показано, что локус *Blp* оказывает существенно влияние на метаболизм растений ячменя. В частности, показано, что данный локус снижает показатели продуктивности колоса у линии с черной окраской, но оказывает положительный эффект на устойчивость проростков ячменя в условиях абиотического стресса. Сравнительный RNA-seq анализ чешуй колоса и перикарпа зерна изучаемых линий позволил установить, что различия аллельного состава в локусе *Blp* ассоциированы с изменением экспрессии более тысячи генов. Среди генов с повышенной экспрессией в линии i:Bw*Blp* наиболее представленными являются гены путей биосинтеза фенилпропаноидов и жирных кислот, в то время как экспрессия генов биосинтеза целлюлозы значительно снижена в этой линии по сравнению с Bw. С помощью световой микроскопии впервые была определена внутриклеточная локализация меланиновых пигментов.

Проведенный сравнительный комплексный анализ показал, что локус *Blp* определяет не только черную окраску колоса, но оказывает влияние на метаболизм растений. Полученные данные позволяют сузить список потенциальных генов-кандидатов локуса *Blp* для последующего их детального изучения.

[1]. Jia et al., Toward identification of black lemma and pericarp gene *Blp1* in barley combining bulked segregant analysis and specific-locus amplified fragment sequencing. // 2017, Front. Plant Sci. 8:1414.

## СОЗДАНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ЛЮЦЕРНЫ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ ЗЕЛЕННОЙ МАССЫ И СЕМЯН

Горюнов К.Н., Игнатьев С.А., Регидин А.А.

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Аграрный научный центр «Донской», Россия, г. Зерноград, Научный городок, 3*

*goriunovkirill@yandex.ru*

Успешное решение проблемы увеличения производства высококачественных белковых кормов для животноводства тесно связано с возделыванием многолетних трав. Основным источником кормового белка на Северном Кавказе является люцерна.

В соответствии с этим изучение широкого потенциала исходного материала люцерны, отбор форм с повышенным содержанием белка, высокой продуктивностью зеленой массы и семян и вовлечение их в селекционный процесс в условиях Ростовской области является весьма актуальным и имеет большое теоретическое и практическое значение.

**Цель работы** – комплексное изучение коллекционных образцов люцерны и включение в селекционный процесс.

В качестве объекта исследования были использованы 105 образцов коллекции люцерны ВИГРР и сорта местной селекции. В качестве стандарта использовался сорт люцерны Ростовская 90. Исследования проводились на опытном участке лаборатории селекции и семеноводства многолетних трав «АНЦ «Донской».

Проводились учеты по хозяйственно-ценным признакам.

Закладка опытов, фенологические наблюдения, полевые учеты проводились по общепринятым методикам.

Определялись структурные показатели урожая (площадь листа, облиственность, количество и высота междоузлий, кустистость, количество кистей на побеге, бобов на кисти, семян в бобе), урожайность зеленой массы и семян, выход сена. Математическая обработка данных проводилась с помощью программ Statistica 10.0, Excel.

Высота растений изучаемой коллекции в фазу начала цветения варьировала от 80,7 см до 116,0 см. Большое количество образцов коллекции было с высотой 95-105 см.

Облиственность растений варьировала от 31 % до 55 %. Высокой облиственностью (50-55%) выделились образцы СГП-413, СГП-434, СГП- 438, СГП-116.

Урожайность зеленой массы изучаемых образцов варьировала в пределах 3,33-11,43 кг/м<sup>2</sup>. Образцы СГП-424, СГП-425, СГП-439 сформировали очень высокую урожайность зеленой массы от 9,00 кг/м<sup>2</sup> до 11,43 кг/м<sup>2</sup>, что на 35-72 % выше стандарта (6,65 кг/м<sup>2</sup>).

Выход сена изучаемой коллекции варьировал в пределах 26-41 %. Образцы СГП-414, СГП-424, СГП-427 сформировали высокий выход сена 39-41%, значительно превысив стандарт.

По семенной продуктивности большая часть изучаемых образцов образцы СГП-402, СГП-411, СГП-414 сформировали урожайность семян от 102,0 г/м<sup>2</sup> до 138 г/м<sup>2</sup>, достоверно превысив стандарт (82,1 г/м<sup>2</sup>).

Таким образом, в изучаемой коллекции имеются образцы, представляющие интерес для практической селекции.

## ASSESSMENT OF THE GENETIC DIVERSITY OF BARLEY LANDRACES MAINTAINED IN THE VAVILOV INSTITUTE OF PLANT GENETIC RESOURCES (VIR) IN THE WORLD SCALE

Grigoreva E.<sup>1</sup>, Kale S.<sup>2</sup>, Stein N.<sup>2</sup>, Kovaleva O.<sup>1</sup>, Loskutov I.<sup>1</sup>, Potokina E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> N. I. Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Russia, Saint-Petersburg, Bolshaya Morskaya 42, 190000

<sup>2</sup> Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Germany, Gatersleben Corrensstraße 3, 06466

[Grigoriewa.liz@yandex.ru](mailto:Grigoriewa.liz@yandex.ru)

The Vavilov Institute of Plant Genetic Resources (VIR) maintains a large barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm collection comprising more than 20,000 accessions from 24 different species. For the accessions “passport” data describing geographical origin, taxonomic status and some phenotypic characters are available. No attempt has yet been made to assess the genetic diversity of the collection with the large number of environmentally neutral, easily scorable molecular markers such as single nucleotide polymorphism (SNP). With the modern technology of Genotyping-by-Sequencing (GBS) available there is a good opportunity to evaluate the genetic diversity of the VIR barley collection for use in crop improvement programs.

In the frame of the collaboration between VIR and Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) 501 barley landraces and local cultivars from the VIR collection were assessed using high throughput GBS technique. The 501 barley accessions originated from 46 countries and were randomly selected for the analysis based on their diverse phenotypic traits. Two individuals from each accessions were genotyped. Reference based variant discovery pipeline identified 76,501 SNPs out of which 23,733 SNPs with  $\leq 10\%$  missing data were selected for downstream study.

The yielded SNP data were compared with those of the ‘Bridge’ project combining genotyping data of 22,626 barley DNA samples from the National Crop Genebank of China (NCGC), the Institute of Crop Sciences of the Swiss National Genebank of Agroscope and the IPK barley germplasm collection. The results of GBS approach performed allowed to compare the genetic diversity of the barley landraces maintained at VIR with the barley germplasm diversity preserved at world gene banks.

## ЗАВИСИМОСТЬ УРОЖАЙНОСТИ ОТ РАЗМЕРА ФЛАГОВЫХ ЛИСТЬЕВ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ СЕЛЕКЦИИ «АНЦ «ДОНСКОЙ»

Громова С.Н.

ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской» 347740, г. Зерноград, Научный городок, 3.

*LavrvaSVN@mail.ru*

Большую роль для увеличения продуктивности играет генетический потенциал сорта. Учеными доказано, что величина и продолжительность работы фотосинтезирующей поверхности листьев – это основной фактор, лимитирующий урожайность в определенных условиях произрастания растений [1].

Целью исследований являлось изучение взаимосвязи между урожайностью зерна и размером флаговых листьев озимой мягкой пшеницы в конкурсном сортоиспытании.

Исследования проводили в 2017-2018 гг. Объектом исследования послужили 79 сортов и линий озимой мягкой пшеницы селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской». За стандарт принимали сорт Ермак.

Анализ полученных данных показал, что урожайность образцов в КСИ варьировала от 9,5 до 12,2 т/га, со средним значением стандарта Ермак – 10,6 т/га. Достоверное превышение над стандартом показали 8 образцов, прибавки к сорту Ермак составили от 0,40 до 1,24 т/га. Урожайность имела слабую положительную связь с длиной и площадью флагового листа в 2017 г. ( $r=+0,29$  и  $r=+0,15$ ) и в 2018 г. ( $r=+0,10$  и  $r=+0,28$ ).

Длина флагового листа варьировала в пределах от 20,2 до 28,5 см. Регрессионный анализ показал, что при увеличении длины флагового листа урожайность образцов пшеницы повышалась в среднем от 9,1 до 10,4 т/га, т.е. каждый 1 см длины повышал урожайность на 0,15 т/га. Самыми урожайными были образцы с длинным флагом. Ширина флагового листа варьировала от 1,6 до 2,4 см. Анализ показал, что более урожайными были образцы пшеницы с шириной листа от 2,0 до 2,3 см (10,0-10,2 т/га).

Длина и ширина флагового листа имеет сильную положительную взаимосвязь с площадью флаговых листьев: в 2017 г.  $r=+0,71$  и  $r=+0,77$ , а в 2018 г.  $r=+0,85$  и  $r=+0,82$ . Площадь флагового листа колебалась в пределах от 19 до 40 см<sup>2</sup>. При увеличении площади листовой пластинки от 19 до 30 см<sup>2</sup> урожайность пшеницы повышалась с 9,1 до 9,8 т/га, а затем до 40 см<sup>2</sup> стабилизировалась примерно на одном уровне.

Таким образом, размеры флаговых листьев озимой мягкой пшеницы можно использовать в качестве маркерных признаков при отборе продуктивных растений.

### Список литературы:

[1]. Некрасова О.А., Костылев П.И., Типы наследования длины, ширины флагового листа у гибридов F<sub>1</sub> мягкой озимой пшеницы. // 2014, Сб. статей II Междунар. научно- практической конференции молодых ученых, преподавателей, аспирантов, студентов, 94 с.

## РОЛЬ МАЛЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ СЕМЕЙСТВА RALFL ПРИ ИНИЦИАЦИИ БОКОВОГО КОРНЯ В МЕРИСТЕМЕ РОДИТЕЛЬСКОГО У ТЫКВЕННЫХ

Гусева Е.Д., Ильина Е.Л., Кирюшкин А.С., Демченко К.Н.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Россия, Санкт-Петербург, ул.

Профессора Попова, д. 2

[lguseva@binran.ru](mailto:lguseva@binran.ru)

Растения, в связи с отсутствием способности к активному передвижению, вынуждены быть лабильными и приспосабливаться к неравномерным условиям их обитания. Регуляция образования бокового корня позволяет компенсировать гетерогенность почвенной среды. В настоящее время известно множество участников различной природы, вовлеченных в процесс образования боковых корней на разных стадиях. У *Arabidopsis* малый сигнальный пептид RALFL34 (Rapid Alkalization Factor 34) участвует в системном контроле этого процесса. RALFL34 действует в сигнальном каскаде выше транскрипционного фактора GATA23, важной мишени фитогормона ауксина, в свою очередь RALFL34, возможно, регулируется этиленом. Экспрессия *RALFL34* начинается до любых видимых признаков инициации бокового корня [1].

С применением филогенетического подхода проведён поиск ортолога гена *Arabidopsis RALFL34* у огурца (*Cucumis sativus*), у которого инициация бокового корня происходит в пределах апикальной меристемы родительского корня. Сравнение белковых и нуклеотидных последовательностей показало высокое сходство между гомологами гена *RALFL34* у *Arabidopsis* и Тыквенных, в частности у огурца. С помощью технологии клонирования Gateway были получены молекулярно-генетические конструкции, использованные для анализа паттерна активности промотора *RALFL34* в корне огурца и содержащие флуоресцентный белок *mNeonGreen* в качестве репортера. Трансгенные корни были получены с помощью агробактериальной трансформации проростков огурца *Agrobacterium rhizogenes* (*Rhizobium rhizogenes*). Используя лазерную сканирующую конфокальную микроскопию, локализован тканевой паттерн экспрессии этого гена. Экспрессия *CsRALFL34* начинается в протоксилеме и на удалении около 200 мкм от инициальных клеток, а также несколько дальше от кончика корня, в клетках стелярной паренхимы, раньше видимых морфологических признаков инициации бокового корня (первых антиклинальных делений). Экспрессия гена *CsRALFL34* также выявлена в перицикле в клетках-основательницах примордиев бокового корня и в самих примордиях на ранних этапах развития бокового корня.

В докладе обсуждается роль RALFL34 как участника системного регуляторного генетического каскада, приводящего к образованию бокового корня в меристеме родительского у Тыквенных.

[1]. Murphy, E., et al., RALFL34 regulates formative cell divisions in *Arabidopsis* pericycle during lateral root initiation. // 2016, Journal of Experimental Botany, V. 67(16), P. 4863-75.

## СЕЛЕКЦИЯ САДОВЫХ КУЛЬТУР В ГБУ СО НИИ «ЖИГУЛЕВСКИЕ САДЫ»

Дементина Л.Г.

ГБУ СО НИИ «Жигулевские сады», Россия, Самара, 443072, 18 км, поселок опытной станции по садоводству

[demenina.lubov@rambler.ru](mailto:demenina.lubov@rambler.ru)

В условиях резко континентального климата Среднего Поволжья особенно актуально использование в региональном садоводстве исключительно районированных сортов, главным образом сортов, созданных учеными-селекционерами ГБУ СО НИИ «Жигулевские Сады» (далее Институт). Основная задача ученых Института, работающих в селекции - совершенствование породно-сортового состава насаждений, внедрение в производство новых высокоурожайных сортов, устойчивых к основным биотическим и абиотическим факторам среды. Цель проведенного исследования - анализ селекции плодовых и ягодных культур для садоводства Самарской области в контексте истории и текущей деятельности Института. Селекционная работа по плодовым и ягодным культурам продолжается все годы деятельности Института. За 87 лет существования организации, из них 14 лет в статусе Института, учеными-селекционерами выведено более 400 новых сортов плодовых и ягодных культур, за последние 14 лет в Государственное сортоиспытание было передано 80 сортов. В настоящее время в Государственный реестр селекционных достижений Российской Федерации включено 60 сортов селекции института, институт является обладателем 16 патентов на селекционные достижения. За период с 2011 по 2018 годы создана обновленная генетическая коллекция, включающая более 800 сортов плодовых, ягодных культур и винограда селекции ГБУ СО НИИ «Жигулевские сады» и ведущих садоводческих учреждений России, а также стран Европы и Азии. В Институте заложены участки коллекционного, первичного, производственного сортоизучения. Селекционерами Института созданы сорта плодовых и ягодных культур нового поколения, отвечающие требованиям современного интенсивного садоводства. Ведущей плодовой культурой в садах Самарской области является яблоня, реже выращиваются ягодные культуры – земляника, смородина черная, малина, гораздо меньше косточковые, в основном вишня. Государственное сортоиспытание проходят 17 сортов яблони: Буян, Самара, Сокское розовое, Самарский сувенир, Подарок министру, Волжанин, Память Кедрина, Синап самарский и др. 18 сортов груши переданы в государственное сортоиспытание - Краса Жигулей, Александра, Галиана, Маршал Жуков, Скромница, Волшебница, Яхонтовая, Краснощекая из Самары и др. Сорта груши Краса Жигулей и Александра районированы в 2018 году. Создана серия клоновых подвоев, адаптированных для региона - Волга 3, Волга 8, Волга 12, Волга 18. Выделены доноры и источники хозяйственно-полезных признаков косточковых культур. Первичное сортоизучение проходят перспективные номера вишни обыкновенной – 2-8-20, 2-8-8, 2-8-45, 2-4-12, 2-4-16, сливы домашней 2-9-11, 2-9-13, 2-9-20, черешни 1-6-22, 1-7-20, 1-7-22. Особое внимание уделяется селекции нетрадиционных культур. В Государственный реестр введены сорта шиповника: Самарский, Десертный, Самарский Юбилейный, Огни Самары, устойчивые к болезням и вредителям, с повышенным содержанием биологически активных веществ, сорта жимолости, лимонника, актинидии.

## ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ СЕМЬИ КРАСНОЙ СМОРОДИНЫ (*RIBES RUBRUM* L.) БЕЛАЯ ПОТАПЕНКО × 1426-21-80

Должикова М.А., Пикунова А.В., Калинина О. В.

Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур

Россия, г. Орел, Жилина 1

[dolzhikova.mari94@mail.ru](mailto:dolzhikova.mari94@mail.ru)

В естественных условиях дикой природы все виды рода смородина (*Ribes* L.)- диплоидны ( $n = 8$ ). Изучение генома с применением ДНК-маркеров, как правило, начинается с оценки генетического полиморфизма. Микросателлитные маркеры выделяют как наиболее подходящие для разработки системы генетического маркирования в целях идентификации генотипов и уточнения генетического происхождения.

Цель работы – получить и проанализировать данные о полиморфизме микросателлитных локусов гибридной семьи красной смородины, полученной по следующей схеме скрещивания: Белая Потапенко × 1426-21-80. Протестирован 141 образец (включая родителей).

Родителями выступают известный сорт смородины – Белая Потапенко и отборная форма (ос) 1426-21-80 (потом сорта Роте Шпетлезе). Сорт Белая Потапенко имеет выраженный желтовато-белый цвет ягод, ос 1426-21-80 характеризуется красным цветом плодов. Материнская форма Белая Потапенко устойчива к мучнистой росе (*Sphaerotheca mors-uvae*), отцовская форма 1426-21-80 восприимчива к данному грибному заболеванию. Длина кисти у родителей так же варьируется: кисти сорта Белая Потапенко короткие, у ос 1426-21-80 – длинные до 13. Так же сорт Белая Потапенко выделяется невысоким габитусом, а ос 1426-21-80 имеет довольно крупный куст.

Выделение растительной ДНК производили из молодых листьев по методике Doyle & Doyle (1990) с модификациями [1]. Разделение ПЦР продуктов производилось в 8 % полиакриламидном геле (ПААГ).

На родителях было протестировано более 30 микросателлитных локусов, из которых отбирались наиболее полиморфные и информативные. Выбранные локусы (2, 10, g1a01, e3b02, g2b20, g1k04, g1M07, g2j08, G2g12, e1001, e1021, e1020, g1po1, 37, 29 и g1L12) были протестированы и проанализированы на всей гибридной семье, протестировано 16 локусов.

При анализе гибридной семьи Белая Потапенко × 1426-21-80 по вышеуказанным микросателлитным локусам, было установлено, что из 16 микросателлитных локусов гетерозиготными у родительской формы 1426-21-80 являются следующие: g1k04, e1021. Гетерозиготными (амплифицирующими по 2 аллеля на ДНК каждого из родителей) оказались десять локусов: 2, 10, g1a01, g1k04, e1001, e1021, g1L12, g2g12, g2j08, e1020.

Анализ распределения родительских аллелей в данных локусах показал, что у большинства гибридов распределение аллелей соответствует теоретически ожидаемому, однако выявлено несколько гибридов (2466-46-85 и 2466-48-2-12) у которых в двух локусах амплифицируются 3 фрагмента – 2 от материнской формы и 1 от отцовской.

Благодарности: Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 18-76-0003.

[1]. Doyle J. J., Doyle J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue //1990, Focus, V. 12, №. 13, P. 39-40.

## ИЗУЧЕНИЕ ЛОКАЛИЗАЦИИ, ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ И ОСОБЕННОСТЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ РАЗВИТИЕ ЛИГУЛЬНОГО РАЙОНА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ТРИБЫ TRITICEAE

Дресвянникова А.Е.<sup>1,2</sup>, Ватанабе Н.<sup>3</sup>, Мутерко А.Ф.<sup>1</sup>, Красников А.А.<sup>4</sup>, Гончаров Н.П.<sup>1</sup>, Добровольская О.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10;

<sup>2</sup> Всероссийский центр карантина растений, Россия, Московская область, Раменский район, п. Быково;

<sup>3</sup> Колледж сельского хозяйства, Университет Ибараки, Япония, Инашики, 300-0393;

<sup>4</sup> Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Россия, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101.

[alinka.dresvyannikova@gmail.com](mailto:alinka.dresvyannikova@gmail.com)

Лист представителей семейства злаковых Poaceae имеет характерную особенность - его дистальную и проксимальную части разделяет лигульный район, состоящий из лигулы и ушек. При правильно сформированном лигульном районе дистальная часть листа, листовая пластинка, располагается под углом к стеблю растения. Формирование дистально-проксимальной оси дифференцировки и развитие органов лигульного района происходит на ранних этапах развития листа и нарушение этих процессов приводит к неполному развитию или отсутствию лигулы и ушек, лист при этом ставится прямостоячим. Изучение особенностей развития и генетической регуляции формирования дистально-проксимальной оси дифференцировки листа у безлигульных мутантов кукурузы *Zea mays L.* позволило выявить новые гены, управлявшие процессами развития - *Lg1*, *Lg2*, *Lg3/Lg4*, *Lgn* и др. Формы с безлигульным фенотипом листа распространены и среди представителей трибы Triticeae, однако изучены в меньшей степени. Безлигульная линия вида *Ae. tauschii* представляет собой индуцированный мутант (Liguleless mutant, Lgt-мутант), фенотип которого находится под контролем доминантного гена *Lg<sup>t</sup>*. С использованием 3933 полиморфных DArTseq маркеров проведено высокопроизводительное генотипирование растений популяции F<sub>2</sub>, полученной от скрещивания *Lg<sup>t</sup>*-мутанта и образца с диким фенотипом листа KU-2126; сконструированы насыщенные маркерами молекулярно-генетические карты хромосом *Ae. tauschii*. Ген *Lg<sup>t</sup>* картирован в коротком плече хромосомы 5D в области консервативной синтении с хромосомами 5DS мягкой пшеницы, *Os12* риса, *Sb2* сорго и *Bd4* брахиподиума. in silico картирование на физической карте *Ae. tauschii* DArTseq маркеров, фланкирующих изучаемый ген по результатам молекулярно-генетического картирования, позволило установить область локализации *Lg<sup>t</sup>* (координаты) на псевдомолекуле 5D. Для подтверждения картирования определен сегмент интрогрессии с помощью маркеров SNP и SSR. Показано, что ортологи генов *LIGULELESS 4*, *LIGULELESS NARROW 1* и *KNOX1*, доминантные мутации которых вызывают безлигульный фенотип листа злаковых, локализованы в хромосомах 1D, 4D и 7D *Ae. tauschii*, и не могут рассматриваться в качестве кандидатов на роль *Lg<sup>t</sup>*, картированном нами в 5DS. Таким образом, ген *Lg<sup>t</sup>* не является ортологом ранее изученных генов злаков *Lg4*, *Lgn1* и *Knox1*, и представляет собой новый, ранее не изученный ген, участвующий в генетическом контроле развития лигульного района листа и формирования дистально-проксимальной оси дифференцировки.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФ(№ 16-16-10021)

## РОЛЬ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ СИНТЕЗ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, В СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ЯЧМЕНЯ И ПШЕНИЦЫ: ИССЛЕДОВАНИЯ НА МОДЕЛЯХ ПОЧТИ-ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ

Глаголева А.Ю.<sup>1</sup>, Гордеева Е.И.<sup>1</sup>, Захарова О.В.<sup>1</sup>, Юдина Р.С.<sup>1</sup>, Шоева О.Ю.<sup>1</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44  
[olesya\\_ter@bionet.nsc.ru](mailto:olesya_ter@bionet.nsc.ru)

Полифенольные соединения антоцианы и фитомеланины определяют окраску различных органов растений. Данные пигменты и их неокрашенные предшественники участвуют в регуляции роста и развития растений, выполняют сигнальные функции, а также сообщалось о взаимосвязи признаков окраски со стрессоустойчивостью растений.

Целью данной работы являлось выявление роли генов *Pp*, контролирующих антоциановую пигментацию зерна и вегетативных органов пшеницы, а также гена *Blp*, контролирующего меланиновую окраску колоса ячменя, в устойчивости растений к абиотическим стрессам.

Работа была проведена на точных генетических моделях почти-изогенных линий пшеницы и ячменя. Линии пшеницы были разработаны на основе сорта Саратовская 29 (С29) в ИЦиГ СО РАН (Новосибирск, Россия) и характеризовались различными комбинациями доминантных аллелей генов *Pp-1* и *Pp3*, обуславливающими отличия в пигментации зерна и вегетативных органов [1]. Почти-изогенные линии ячменя по локусу *Blp*, полученные из ГенБанка NordGen (<https://www.nordgen.org/en/>), отличались наличием темноокрашенных пигментов в цветковых чешуях и перикарпе зерна. В качестве тестируемых стрессовых стимулов к однодневным проросткам пшеницы и ячменя добавлялись соли NaCl, CdCl<sub>2</sub> и PEG6000 в различных концентрациях, моделируя, соответственно, условия засоления, загрязнения среды ионами тяжёлых металлов и засуху различной интенсивности. На пятый день эксперимента проводили измерения длины корней и проростков, а также массы данных частей растений.

Сравнение морфометрических показателей между линиями пшеницы показало, что линии с интенсивной антоциановой пигментацией зерна и колеоптиле имеют более высокие ростовые показатели при действии различных типов стрессов по сравнению со слабоокрашенной С29. Данные отличия между линиями наблюдались в условия стресса низкой интенсивности, тогда как при воздействии стрессом высокой интенсивности, отличий между линиями по морфометрическим показателям выявлено не было. Фенотипически линии ячменя с различными аллелями в локусе *Blp* на стадии проростков не отличались, тогда как в условиях стресса линия, несущая доминантный аллель *Blp*, имела большие показатели роста по сравнению с линией с рецессивным *blp*.

Таким образом, в результате работы была установлена защитная роль генов *Pp* и *Blp*, контролирующих синтез полифенольных соединений, в условиях абиотического стресса.

[1]. Gordeeva E.I. et al., Marker-assisted development of bread wheat near-isogenic lines carrying various combinations of *Pp* (*purple pericarp*) alleles // 2015, Euphatica, V.203(2), P.469–476, doi: 10.1007/s10681-014-1317-8.

## РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО ФЕНОТИПИРОВАНИЯ РАСТЕНИЙ ДИКИХ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ

Иванова К.А.<sup>1</sup>, Комышев Е.Г.<sup>1</sup>, Генаев М.А.<sup>1</sup>, Колошина К.А.<sup>1</sup>, Эрст Т.В.<sup>1</sup>, Егорова А.В.<sup>1,2</sup>, Дорошков А.В.<sup>1</sup>, Чалая Н.А.<sup>3</sup>, Рогозина Е.В.<sup>3</sup>, Ибрагимова С.С.<sup>1</sup>, Афонников Д.А.<sup>1</sup>, Кочетов А.В.<sup>1,2</sup>, Герасимова С.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Россия, Новосибирск.

<sup>2</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Россия, Новосибирск. <sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», Россия, г. Санкт-Петербург.

[ivanova@bionet.nsc.ru](mailto:ivanova@bionet.nsc.ru)

Дикие виды картофеля имеют широкое внутривидовое разнообразие и являются обширным источником новых генов для селекции. Целью работы является разработка системы оценки фенотипа диких видов картофеля методами высокопроизводительного фенотипирования и цифровой обработки данных. В качестве исходного материала была использована коллекция диких видов картофеля из коллекции ВИР, включающая 36 образцов, принадлежащих к 14 видам. Для получения наиболее полных данных о фенотипе и характеристиках роста выбранных образцов составленной коллекции эксперименты проводили в трех условиях: образцы в культуре *in vitro*, в климатической камере и в полевых условиях. Полученные в результате выращивания в разных условиях растения были охарактеризованы при помощи ряда методов цифрового фенотипирования на основе предыдущих разработок ИЦиГ СО РАН и новых методов, ранее не применявшихся для подобного материала. Впервые был применен метод фенотипирования образцов дикого картофеля, в том числе растений, выращиваемых *in vitro*, с использованием гиперспектральной камеры Specim IQ (оборудование любезно предоставлено «АЗИМУТ ФОТОНИКС», Москва), который позволяет выделить видоспецифические характеристики и диагностировать физиологическое состояние растения. Для растений, выращенных в камере и в поле были получены изображения соцветий, листьев и клубней на фоне калибровочной палитры ColorChecker (x-rite ColorChecker® Classic Mini), что позволяет производить цветокоррекцию и нормировку по размеру. Был проведен анализ ряда характеристик опушения листьев растений, выращенных в климатической камере, с помощью компьютерной программы LHDetect2 [1]. Анализ клубнеобразования проводился методом цифрового фенотипирования на основе приложения SeedCounter [2], адаптированного для анализа морфологии клубней. Клубни дикого картофеля, выращенного в полевых условиях, были использованы для выделения и определения процентного содержания крахмала. Специфические характеристики морфологии гранул крахмала определялись получением микрофотографий с помощью оптического микроскопа и их последующей обработкой в программе ImageJ [3]. На основе полученных результатов создается база данных фенотипических характеристик диких видов картофеля.

[1]. Дорошков А.В., Генаев М.А., Афонников Д.А. Протокол анализа количественных характеристик опушения листа картофеля. // 2016, Вавиловский журнал генетики и селекции.;20(6):863-868. [2]. Komyshev E., Genaev M., Afonnikov D. Evaluation of the SeedCounter, A Mobile Application for Grain Phenotyping. // 2016, Front Plant Sci.. Vol. 7. P. 1990. [3]. Хлесткин В.К., Эрст Т.В. Практическое руководство по оценке морфологии гранул картофельного крахмала методом микроскопирования. // 2017, Вавиловский журнал генетики и селекции.;21(6):728-734. Работа была выполнена при поддержке РФФИ 18-316-00068.

## РАЗРАБОТКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ НА ГЕНЫ УСТОЙЧИВОСТИ К РАСАМ 336 И 777 РЖАВЧИНЫ ПОДСОЛНЕЧНИКА (*PUCCINIA HELIANTHI* SCHWEIN.).

Исаев Д.А. , Соловьев А.А. , Сыксин С.В.

Лаборатория агробиотехнологий кафедры генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, Россия, Москва, Тимирязевская ул.49  
[isaevde@me.com](mailto:isaevde@me.com)

Ржавчина подсолнечника, вызванная грибом *Puccinia helianthi* Schwein., является одним из самых серьезных заболеваний культурного подсолнечника (*Helianthus annuus* L.).

В настоящее время расы 336 и 777 ржавчины являются преобладающими и наиболее вирулентными [1].

Недавно полученная линия РНА 464, восстановитель мужской фертильности, устойчива как к наиболее преобладающим, так и к наиболее вирулентным расам ржавчины, обнаруженных в Северной Великой равнине США.

Из статейных данных [2] в работу были использованы два SNP маркера NSA\_003426 и NSA\_004155, которые «сцеплены» с геном R12.

Эти два маркера позволяют диагностировать [A]/[C] нуклеотидную замену, которая характеризует образец, как восприимчивым или устойчивым к расам ржавчины 336 и 777.

Выделение ДНК проводили методом осаждения на кремнивые частицы набором «Сорб-ГМО-Б» производства компании СИНТОЛ (Россия).

ПЦР–ОТ проводили в стандартной ПЦР-смеси по индивидуально для каждой пары праймеров модифицированному режиму.

Для определения температуры отжига праймеров, а также GC состав, использовали on-line приложение Promega BioMath Calculators, анализ возможности образования шпилек и димеров производился в онлайн-калькуляторе OligoCalc и электронном инструменте ThermoFisher Multiple Primer Analyzer.

Данная система позволяет нам диагностировать образцы по двум маркерам NSA\_003426 и NSA\_004155 на наличие однонуклеотидного полиморфизма.

[1]. Gulya TJ, Markell S., Sunflower rust status—2008. Race frequency across the Midwest and resistance among commercial hybrids // 2009

[2]. Talukder ZI, Gong L, Hulke BS, Pegadaraju V, Song Q, Schultz Q, Qi L., A high-density SNP map of sunflower derived from RAD-sequencing facilitating fine-mapping of the rust resistance gene R12. //2014

## ИЗУЧЕНИЕ СОРТОВ И ЛИНИЙ ОЗИМОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ КОНКУРСНОГО СОРТОИСПЫТАНИЯ В «АНЦ «ДОНСКОЙ»

Каменева А.С.

*Федерально государственное бюджетное научное учреждение «Аграрный научный центр «Донской», Россия, г. Зерноград, Научный городок, 3*

*[kameneva.anka2016.@yandex.ru](mailto:kameneva.anka2016@yandex.ru)*

Твердая озимая пшеница для условий Дона – культура новая и в эволюционном отношении молодая. Селекционная работа по ней ведется с 1957 года. Народнохозяйственная ценность зерна твердой пшеницы определяется его высокими технологическими достоинствами и прежде всего исключительной упругостью, прочностью и растянутостью клейковины. Благодаря высокостекловидному, янтарно-желтому зерну с повышенным содержанием белка и клейковины, хорошей сбалансированности глиадина и глютеина (2:1), лучшим аминокислотным составом, особым физическим свойствам теста, способности давать специальную крупнозернистую крупку она является единственным сырьем для изготовления высококачественных макаронных изделий

**Цель работы** – изучить сорта и линии озимой твердой пшеницы в конкурсном сортоиспытании по основным хозяйственно-ценным признакам и свойствам и выявить корреляционную зависимость между ними.

Исследования проводили на полях научного севооборота отдела селекции и семеноводства озимой пшеницы ФГБНУ «АНЦ «Донской» в 2016-2017 годах. Материалом для исследований послужили 15 сортов и селекционных линий озимой твердой пшеницы селекции АНЦ «Донской». В качестве стандарта использовался сорт Дончанка.

**Анализ полученных данных позволяет сделать следующие выводы:**

В 2016-2017 гг. все изучаемые сорта и линии озимой твердой пшеницы превысили стандартный сорт Дончанка по урожайности на 0,29-1,49 т/га. Прибавку более 1 тонны имели следующие образцы: 840/12 (8,42 т/га), Кристелла (8,62 т/га), 993/12 (8,74 т/га), Лазурит (8,76 т/га), Янтарина (8,89 т/га).

Высокой устойчивостью к полеганию отличались: Юбилярка, Агат Донской, Тейя, Яхонт, 840/11, 840/12.

Максимальную оценку перезимовки (4,5-5 балла) имели следующие образцы: Амазонка, Кристелла, Оникс, Диона, 840/12.

Также изучаемые сорта и линии характеризовались высокими показателями качества (натура, стекловидность, содержание белка). В среднем за два года наибольшей натура зерна была у следующих сортов и линий: Янтарина (819 г/л), 993/12 (809 г/л), Эйрена (808 г/л), Кристелла и Тейя (807 г/л).

Стекловидность зерна у изучаемых сортов и линий была высокой, максимальные значения данного показателя отмечены у сортов: Оникс (98 %), Юбилярка (96 %), Амазонка и Лазурит (95 %).

Самым высокобелковым оказался сорт Яхонт (14,64 %).

В результате корреляционного анализа отмечены достоверные положительные связи урожайности с высотой растений и натурой зерна ( $r=0,65$  и  $0,59$ , соответственно).

## ТЕХНОЛОГИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРОТОПЛАСТОВ КАРТОФЕЛЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ СОРТОВ ДЛЯ ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ

Коновалова Л.Н., Стрельникова С.Р., Комахин Р.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии”, Россия, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42

[recombination@iab.ac.ru](mailto:recombination@iab.ac.ru)

Технология редактирования генома CRISPR/Cas9 в самом простом применении позволяет целенаправленно создать мутации во всех аллелях конкретного гена у тетраплоидного картофеля (*Solanum tuberosum* L.) и придать сорту новые полезные признаки [1]. При этом исключить этап возникновения трансгенных растений позволяет метод транзientной экспрессии генетических конструкций в индивидуальных протопластах. Для внедрения этой технологии необходимы высокоэффективные методы выделения мезофильных протопластов из растений картофеля отечественных сортов, их трансфекции генетическими конструкциями и регенерации побегов из индивидуальных клеток.

Нами установлено, что жизнеспособность мезофильных протопластов восьми изученных сортов картофеля отечественной селекции была высокой и варьировала от 93 до 99 %. В зависимости от сорта из 1 грамма асептических листьев выделялось от 1,2 до 4,8 млн/мл клеток, которых достаточно для проведения последующих статистически достоверных экспериментов.

Протопласты всех изученных сортов трансфецировали плазмидой pHBT-sGFP-NosT с геном зеленого флуоресцентного белка GFP под контролем вирусного промотора CaMV35S. По результатам оценки флуоресценции GFP эффективность трансфекции составляла от 10 до 50 % протопластов, зависела от сорта и концентрации полиэтиленгликоля. Полученные показатели эффективности сопоставимы с опубликованными ранее зарубежными результатами по редактированию генома картофеля.

Известно, что при использовании выбранного способа редактирования генома картофеля, эффективность создания растений с мутациями во всех аллелях составляет 1-2%. Поэтому для получения репрезентативной выборки отредактированных растений необходимо получать тысячи независимых регенерантов. Однако регенерационный потенциал отечественных сортов не изучен. При использовании стандартных методов регенерации, некоторые из проверенных нами сортов образовывали из протопластов микроколонии, на которых затем формировались побеги. Однако эффективность этого процесса оставалась невысокой. В настоящее время выяснено, что использование альгинатной пленки позволяет значительно ускорить получение колоний и повысить эффективность регенерации побегов.

Работа выполнена при поддержке КПНИ «Картофелеводство» (Развитие селекции и семеноводства картофеля).

Список литературы

[1]. Andersson M. et al., (2016). Efficient targeted multiallelic mutagenesis in tetraploid potato (*Solanum tuberosum*) by transient CRISPR-Cas9 expression in protoplasts. *Plant Cell Reports*, V. 36, № 1, pp 117–128.

## ИССЛЕДОВАНИЕ РЕГЕНЕРАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА СОРТОВ ЯЧМЕНЯ

Короткова А.М.<sup>1</sup>, Герасимова С.В.<sup>1</sup>, Кукоева Т.В.<sup>1</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ИЦИГ СО РАН, Россия, Новосибирск, пр.ак.Лаврентьева,10;

<sup>2</sup>ВИР, Россия, Санкт-Петербург, ул.Большая Морская, 42-44

[korotkova@bionet.nsc.ru](mailto:korotkova@bionet.nsc.ru)

В последние годы активно развиваются методы геномного редактирования, и расширяется их применение в селекции сельскохозяйственных растений [1]. Использование данных методов на однодольных растениях имеет свои ограничения [2], связанные, в частности, с эффективностью регенерации, которая может значительно варьировать у различных сортов одного вида. Способность разных сортов к регенерации *in vitro*, и определяющие эту способность генетические факторы во многом еще не изучены.

Для оценки регенерационного потенциала были выбраны сорта ярового ячменя сибирской коллекции: Биом, Талан, Ворсинский 2, Алей, Ача, Сигнал, Л-421, Колчан, В-1, Красноярский 91, Саша; сорт Bowman и линии, полученные на основе этого сорта (ALBAND, ALBAN, PLP, BPL); сорта Morex, Steptoe, Dom, Rec, а также сорт Golden Promise, выбранный в качестве контроля, как модельный сорт с высоким регенерационным потенциалом.

В эксперимент было взято по десять растений каждого сорта. Оценивалась способность сортов к каллусообразованию, регенерации и органогенезу *in vitro*. Незрелые зародыши изолировались и помещались на каллусообразующую среду без добавления антибиотиков [3]. Раз в неделю проводился подсчет количества эмбрионов, образовавших каллус. Через четыре недели образцы каллусов перемещались на вторую среду – для формирования очагов регенерации. Каждую неделю оценивалось количество каллусов с очагами регенерации (появление зеленых точек или корней). После 4 недель образцы перемещались на третью среду – для органогенеза. Через месяц культивирования на третьей среде оценивался процент эксплантов, сформировавших полноценные растения-регенеранты, по отношению к общему количеству эксплантов.

Было установлено, что эмбрионы всех исследуемых генотипов, способны к каллусообразованию, к формированию участков органогенеза и к дальнейшей регенерации. Однако скорость и эффективность регенерации существенно варьирует и, очевидно, является генотип-специфичной.

С целью выявления генетических факторов, ассоциированных с регенерационной способностью *in vitro*, использовались данные SNP-генотипирования сортов. На основе данных аннотации SNP-локусов были выбраны SNP в генах, связанных с развитием растений, и был проведен корреляционный анализ с помощью программы STATISTICA для выявления взаимосвязи аллелей генов раннего развития с данными по регенерационной способности.

[1]. Korotkova A.M., Gerasimova S.V., Shumny V.K., Khlestkina E. K., Crop genes modified using the CRISPR/Cas system // Russ. J. Genet. Appl. Res. 2017. Vol. 7, № 8.

[2]. Gerasimova S.V. Khlestkina E.K., Kochetov A.V., Shumny V.K., Genome editing system CRISPR/CAS9 and peculiarities of its application in monocots // Russ. J. Plant Physiol. 2017. Vol. 64, № 2.

[3]. Harwood W. A., Bartlett J. G., Alves S. C., Perry M., Smedley M. A., Leyland N., Snape J. W., Barley Transformation Using Agrobacterium-Mediated Techniques. // 2009, Methods Mol Biol.V.478, P.137-147.

## ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ АССОЦИАЦИИ *IN VITRO* МИКРОРАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ С БАКТЕРИЯМИ *AZOSPIRILLUM* *BRASILENSE*

Костина Е.Е.<sup>1</sup>, Каргаполова К.Ю.<sup>1</sup>, Бурьгин Г.Л.<sup>1,2</sup>, Ткаченко О.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Россия, Саратов, Театральная пл. 1; <sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Россия, Саратов, просп. Энтузиастов 13

[kostinaee@yandex.ru](mailto:kostinaee@yandex.ru)

Картофель – четвертая по площади посевов культура в мире. Рентабельность семеноводческого процесса и качество семенного материала прямо зависят от эффективности методов получения мини-клубней картофеля в производстве оригинальных семян картофеля [1]. Одним из перспективных подходов в повышении продуктивности и качества семенного материала картофеля, является инокуляция растений рост-стимулирующими ризобактериями, которые способны стимулировать рост и развитие микрорастений и повышать их устойчивость к абиотическому стрессу и фитопатогенам. Бактеризация картофеля штаммом *Azospirillum brasilense* Sp245 улучшает развитие корневой системы микроклонов *in vitro*, стимулирует адаптацию полученных регенерантов к условиям *ex vitro*, а также способствуют увеличению урожая мини клубней в полевых условиях [2]. При этом, в литературе имеются данные о преимуществах растительно-микробных ассоциаций, поддерживаемых в ряду поколений без реинокуляции [3]. Целью данной работы было создание и изучение устойчивых ассоциаций картофеля сорта Невский со штаммами *A. brasilense* в условиях *in vitro*.

Коллекционные штаммы *A. brasilense*, не растущие на среде с сахарозой, и не вызывающие застоя среды культивирования микрорастений, были проанализированы на рост-стимулирующую активность по отношению к картофелю в условиях *in vitro*. Культуры штаммов *A. brasilense* Sp7, Sp245, S27, SR80 и SR88 были использованы для инокуляции картофеля с последующим клональным размножением полученных микрорастений в течение 5 поколений. Иммунохимическими методами установлено, что все пять штаммов сохранялись в ассоциации с растениями в течение всего эксперимента. Выявлены улучшения ростовых характеристик и приживаемости полученных микроклонов относительно стерильных растений. Полученные данные могут быть использованы в дальнейших фундаментальных и прикладных исследованиях.

[1]. Buckseth T. et al., Methods of pre-basic seed potato production with special reference to aeroponics – A review. // 2016, Sci. Hortic., V.204, P.79-87.

[2]. Tkachenko O.V. et al., Improved potato microclonal reproduction with the plant-growth promoting rhizobacteria *Azospirillum*. // 2015, Agron. Sustain. Develop., V.35, P.1167-1174.

[3]. Barka E.A. et al., Enhancement of *in vitro* growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. // 2000, FEMS Microbiol. Lett., V.186, P.91-95.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-016-00116.

## СЕМЕЙСТВЕННЫЕ ЛЕСОСЕМЕННЫЕ ПЛАНТАЦИИ (ЛСП) КАК ОБЪЕКТЫ СЕЛЕКЦИОННОГО СЕМЕНОВОДСТВА И СОХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДА ДУБА

Крюкова С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики», селекции и биотехнологии

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова», Воронеж, Россия,  
[skrukova@bk.ru](mailto:skrukova@bk.ru)

Создание специальных объектов для регулярного и продолжительного получения семян лесных пород, осуществляется на основе отбора в природных популяциях лучших семенных деревьев, называемых «плюсовыми». По данным наших селекционных инвентаризаций в дубравах пяти областей Центрального Черноземья за последние 50-лет отобрано – 523 плюсовых деревьев дуба. В настоящее время семейственные ЛСП заложены в Белгородской – 8,8 га, Воронежской – 24,0 га и Тамбовской областях – 30,4 га. Наиболее удачные экспериментальные объекты находятся в Воронежской и Тамбовской областях. Воронежская область – Александровское уч. л-во (кв.162, 163) Воронцовского л-ва, площадь 12,0 га. Плантация создана Ю.П. Ефимовым в 1995-97 гг. 1-2-летними сеянцами полусибсовых потомств трех микропопуляций: Шипов лес Воронцовское л-во; Бутурлиновское л-во; Белгородская область Алексеевское л-во. Всего на ЛСП представлено 105 полусибсовых потомств плюсовых деревьев. Сохранность на 2018 г. – 1624 дерева, из которых плодоносило 30%, на каждом дереве насчитывалось от 100 до 1000 желудей. Так же на небольших участках (по 1 га) в Семилукском питомнике были созданы клоновые ЛСП (1976-77 гг.) прививкой черенков с 50 плюсовых деревьев из Шипова леса. Хотя клоновые ЛСП имеют ряд преимуществ перед семенными, однако их создание приводит к отторжению привоя от подвоя, что способствует прогрессирующему отпаду с возрастом. В Тамбовской области ЛСП заложены (1996-2012 гг.) в трех лесничествах (30,4 га): 1) Уваровское л-во (кв.58, выд.12) на площади 9,4 га, а с защитной полосой из тополя и березы – 11,3 га; 2) Кирсановское л-во (кв.49, выд.1) – 10,0 га; 3) Мичуринское л-во (Шехманский тех.участок кв.30, выд.30) – 11,0 га. Всего на трех ЛСП представлено 488 полусибсовых потомств, сохранность которых на 2018 г. составила – 89,6%. Средняя высота ЛСП в возрасте 8 лет – 3,56 м, а в 20 лет – 10,2 м с диаметром – 18,6 см. Первое плодоношение ЛСП проявилось в возрасте 7-8 лет с количеством плодоносящих деревьев 56 шт. (5,8%) по 20 желудей на дереве. В 12-летнем возрасте наблюдалось хорошее и обильное плодоношение на Шехманском тех.участке (поле №1, 2,5 га), где насчитывалось плодоносящих 527 дубков, из которых 26,0% плодоносило обильно, 45,2% – средне и 28,8% – особой без урожая. Таким образом, ЛСП могут обеспечить долговременное получение семян улучшенной селекционной категории и сохранение генофонда дуба черешчатого лучших популяций с богатым внутривидовым разнообразием.

## РОЛЬ ПЕПТИДОВ CLE В РАЗВИТИИ ЗАПАСАЮЩИХ КОРНЕЙ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Кузнецова К.А., Додуева И.Е., Ганчева М.С., Лутова Л.А.

Санкт - Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологий, Университетская набережная, 7/9, 199034, Санкт – Петербург, Россия

Запасающие корни – это органы растений, формирование которых является примером специализации к запасанию веществ. Основная масса запасющего корня состоит из паренхимы вторичной ксилемы, чье функционирование связано с активностью латеральной меристемы – камбия. К настоящему времени был выявлен целый ряд регуляторов развития камбия, в том числе – пептиды CLE – короткие белки, играющие важную роль в процессах роста и развития растений. Однако механизмы генетического контроля образования запасющего корня в настоящий момент изучены неполно, и, в связи с важным экономическим значением корнеплодных сельскохозяйственных культур, представляется необходимым их более подробное изучение.

В настоящей работе исследована роль пептидов CLE в развитии запасющих корней у форм растений, образующих корнеплод и не образующих его. Такие виды были обнаружены среди различных родов, в частности *Brassica*, *Beta* и *Raphanus*, различающихся по способности к формированию запасющего корня. Были измерены уровни экспрессии двух генов (*CLE19* и *CLE41*) в различных органах растений и на разных стадиях развития корня. Значительное увеличение уровней экспрессии генов *CLE19* и *CLE41* наблюдалось в процессе вторичного роста корней у растений, формирующих корнеплоды. Было определено, что экспрессия этих генов в корне ограничивается различными типами тканей. В данной работе мы показываем, что *CLE19* увеличивает количество одревесневающих элементов ксилемы, а *CLE41* стимулирует образование дополнительных колец камбия во вторичной ксилеме.

## МАРКЕР–КОНТРОЛИРУЕМОЕ ПОЛУЧЕНИЕ ФОРМ ЯЧМЕНЯ С АНТОЦИАНОВОЙ ОКРАСКОЙ ЗЕРНА

Кукоева Т.В.<sup>1</sup>, Генералова Г.В.<sup>1</sup>, Стрыгина К.В.<sup>1</sup>, Григорьев Ю.Н.<sup>1</sup>, Яковлев М.А.<sup>2</sup>,  
Глаголева А.Ю.<sup>1</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, Россия, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160; <sup>3</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44

[kukoeva@bionet.nsc.ru](mailto:kukoeva@bionet.nsc.ru)

Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) является важной сельскохозяйственной культурой. В структуре мирового производства зерна он занимает четвертое место после кукурузы, пшеницы и риса. Зерно ячменя содержит много клетчатки и мало крахмала, что делает данную культуру диетическим продуктом питания. Для повышения пищевой ценности зерновых культур в мире существует устойчивая тенденция насыщения зерна биологически активными соединениями антоцианами [1]. У ячменя данные соединения могут накапливаться в перикарпе (где их биосинтез контролируется комплементарно взаимодействующими генами *Ant1* и *Ant2*), в алейроновом слое (*HvMyc2*), либо в двух тканях одновременно, придавая зерну красно-фиолетовую, голубую и темно-фиолетовую окраски, соответственно [2]. Однако к настоящему моменту на территории нашей страны не созданы и не возделываются сорта ячменя с окрашенным зерном. Целью данной работы являлось маркер-контролируемое получение селекционного материала ячменя, накапливающего антоцианы в алейроновом слое и перикарпе зерновки, на основе районированных сибирских сортов. В качестве материнских форм были выбраны сорта Ворсинский 2, Алей и Танай, а в качестве отцовских форм – почти-изогенные линии сорта Bowman ‘Intence blue aleurone’ и ‘Purple lemma and pericarp’ из Nordic Gene Bank (NGB, [www.nordgen.org](http://www.nordgen.org)), являющиеся донорами гена *HvMyc2* и генов *Ant1/Ant2*, соответственно. На основе гибридов F<sub>1</sub> были получены растения F<sub>2</sub>, среди которых с помощью диагностических ПЦР- и CAPS-маркеров к генам *HvMyc2* и *Ant1/Ant2* были отобраны гомозиготные растения с голубой и фиолетовой окраской зерновки, соответственно. Данные растения были высеяны в поле, было проведено их бэккроссирование на исходные сорта. В течение года было получено 350 растений BC<sub>1</sub>F<sub>2</sub> (бэккросс первого поколения), которые будут подвергнуты дальнейшему 5-6 кратному возвратному скрещиванию и маркер-контролируемому отбору гомозиготных растений.

[1]. Zhu F., Anthocyanins in cereals: composition and health effects. // 2018, Food Res. International. V.109, P.232–249.

[2]. Шоева О.Ю., Стрыгина К.А., Хлесткина Е.К., Гены, контролирующие синтез флавоноидных и меланиновых пигментов ячменя // 2018, Вавиловский журнал генетики и селекции. Т.22(№3), С.333-342.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-416-543007.

## ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *RIBES NIGRUM* L. (*GROSSULARIACEAE*)

Лебедев А.А.

ВНИИ люпина филиал ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса», Российская Федерация, г. Брянск,  
241524, г. Брянск, пос. Мичуринский, ул. Берёзовая, 2  
[andrej\\_lebedev\\_91@mail.ru](mailto:andrej_lebedev_91@mail.ru)

Достижения в области культуры тканей и клеток привели к созданию принципиально нового метода вегетативного размножения – клонального микроразмножения, т.е. размножение в культуре *in vitro*. Данный метод позволяет получить оздоровленный посадочный материал от болезней и вирусов, а также ускоряет селекционный процесс. Позволяет использовать небольшие площади для размножения растений. В его основе лежит уникальная способность растительной клетки реализовывать присущую ей тотипотентность, т.е. возможность давать начало целому растению.

Растения смородины чёрной при размножении в культуре *in vitro* имеют ряд особенностей в сравнении с другими культурами. Таким отличием является формирование коротких побегов на этапе размножения при культивировании растений на питательной среде с цитокининами. Высота растений не превышает одного сантиметра и варьировала от 5,8 до 7,4 мм.

При введении в культуру *in vitro* в качестве источников эксплантов использовали как апикальные, так и боковые почки. Разные исследователи применяли препарат 6-БАП [1]. В наших исследованиях на этапе введения наилучшие результаты показал регулятор роста СРРУ в концентрации 0,2 мг/л. Растения имели лучшую приживаемость и крупный размер по сравнению с 6-БАП.

На этап размножения новые растения были получены путём черенкования образовавшихся под действием цитокининов побегов. Одно субкультивирование длилось от 3 до 6 недель.

Применение препарата «Компливит» в сочетании с 6-БАП привело к увеличению коэффициента размножения и высоты эксплантов. Растения формировали вытянутые побеги, что давало возможность применять черенкование по междоузлиям, листья увеличивались в размере и приобретали интенсивно зелёную окраску.

[1] Тарашвили З.Т. Ускоренное размножение чёрной и красной смородины методом *in vitro*// Автореф. дис канд. с-х. наук:06.01.07.М.,1985.22с.

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗ ЯЧМЕНЯ (*Hordeum vulgare* L.) В КОНТЕКСТЕ ФОРМИРОВАНИЯ ПРИЗНАКА ЧЕРНОЙ ПИГМЕНТАЦИИ КОЛОСА

Леванова Н.М.<sup>1,2</sup>, Глаголева А.Ю.<sup>1</sup>, Кукоева Т.В.<sup>1</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,3</sup>, Шоева О.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск; <sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск; <sup>3</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург

[n.levanova@g.nsu.ru](mailto:n.levanova@g.nsu.ru)

Полифенолоксидаза (РРО) является ферментом класса оксидоредуктаз, который играет важную роль в ответе растений на биотический стресс. Защитные функции РРО проявляются при поранении тканей, когда происходит контакт фермента, локализуемого в хлоропластах, с фенольными соединениями, присутствующими в цитоплазме. В результате катализируемой РРО реакции ферментативного потемнения фенольные соединения окисляются до высокореактивных хинонов с последующей их полимеризацией и образованием черно-коричневых пигментов, известных как меланины. Образующиеся в ходе реакции хиноны и активные формы кислорода являются токсичными для патогенов, а также запускают каскад защитных реакций. В последнее время появились данные об активности РРО в неповрежденных тканях, где их точные функции остаются неизвестными. В частности, не установлена роль данного фермента в формировании темноокрашенных пигментов в интактных тканях семян, описанных у ряда растений, в том числе у ячменя, у которого синтез черных пигментов в колосе контролируется моногенно локусом *Vlp*, картированным на длинном плече хромосомы 1Н. Целью данного исследования является структурно-функциональная характеристика генов семейства полифенолоксидаз ячменя и установление их роли в формировании признака черной окраски колоса. В качестве генетической модели нами были выбраны почти-изогенные линии ячменя: линия 'Black lemma and pericarp', характеризующаяся наличием черного пигмента в цветковых чешуях и перикарпе зерна, и неокрашенный родительский сорт Bowman.

На основе известных последовательностей *Pro* ячменя, картированных на хромосоме 2Н (*Pro1*, *Pro2*) [1], мы идентифицировали еще две копии *Pro3* и *Pro4*, локализованные на хромосомах 3Н и 4Н, соответственно. Было установлено, что все копии содержат консервативный тирозиназный домен, но при этом имеют различную экзон-интронную структуру, а также различную структуру промоторов. Для анализа экспрессии копий генов *Pro* была выделена РНК как из неокрашенных тканей ячменя (колеоптиле, корни, лист, стебель), так и из окрашенных цветковых чешуй и перикарпа зерна на разных стадиях развития колоса, а также разработаны специфичные праймеры для каждой из копий. Было показано, что копии *Pro1*, *Pro2*, *Pro3* имеют различные паттерны экспрессии, при этом экспрессия копии *Pro2* увеличивается в черноокрашенной линии по мере появления пигмента. Копия *Pro4* не является транскрипционно активной ни в одной из тканей как у окрашенной, так и у неокрашенной линии. Вероятно, данная копия подверглась псевдогенизации.

Таким образом, впервые была показана специфическая активация транскрипции гена *Pro2* при формировании черной пигментации колоса ячменя.

[1]. Taketa S. et al., Duplicate polyphenol oxidase genes on barley chromosome 2Н and their functional differentiation in the phenol reaction of spikes and grains. // 2010, J. Exp. Botany, V.61, P.3983–3993. doi:10.1093/jxb/erq211.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-14-00086.

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОВ LBD16 В ИНИЦИАЦИИ ПРИМОРДИЯ БОКОВОГО КОРНЯ КАБАЧКА (*CUCURBITA PEPO*)

Островерхова М.Г., Ильина Е.Л., Кирюшкин А.С., Демченко К.Н.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2;

[mostroverkhova@binran.ru](mailto:mostroverkhova@binran.ru)

Корневые системы высших растений являются важнейшим органом, участвующим в адаптации к условиям окружающей среды. Для интенсификации поглощения жидкостей происходит ветвление корня, что позволяет увеличивать площадь поверхности всасывания. Разнообразие корневых систем обеспечивает адаптивные свойства растений к различным почвам и местообитаниям. Инициация примордиев бокового корня у Тыквенных происходит непосредственно в апикальной меристеме материнского корня, в отличие от большинства цветковых, у которых закладка боковых корней осуществляется в зоне растяжения [1]. Подавляющее большинство форм растений в природе определяется согласованными временными и пространственными программами развития, которые регулируют формирование различных структур. Ключевыми регуляторами процессов развития растений являются транскрипционные факторы семейства LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN (LBD). С помощью филогенетического анализа у тыквенных нами идентифицировано семейство LBD и проведён поиск ортолога гена *LBD16 Arabidopsis* у кабачка (*Cucurbita pepo*), у которого инициация боковых корней происходит в пределах апикальной меристемы материнского корня. Геном кабачка в ходе эволюции был дублирован, в связи с этим, нами выявлено два паралога этого гена. В промоторе *AtLBD16* выявлен ауксинактивируемый домен. Данные транскриптомного анализа корня кабачка позволили выявить паралог, экспрессия которого при воздействии экзогенным ауксином значительно увеличивается. Для определения паттерна экспрессии использовались трансгенные корни кабачка, несущие конструкцию *CpLBD16::mNeonGreen-H2B*. С применением конфокальной микроскопии локализован тканевой паттерн экспрессии *CpLBD16* в корне кабачка. *CpLBD16* активно экспрессируется в апикальной части меристемы материнского корня (инициальных и первых клетках рядов клеток центрального цилиндра), протофлоэме, а также в клетках-предшественницах инициалей уже сформированного примордия бокового корня. Такой паттерн экспрессии позволяет сделать вывод о том, что ген *CpLBD16* в отличие от *AtLBD16* выполняет иные функции и отвечает за развитие материнского корня, а не бокового. В докладе обсуждаются различия в генетической регуляции программы первых делений клеток, иницирующих боковой корень в различных зонах корня.

[1] Ilina E.L et al. Lateral root initiation and formation within the parental root meristem of *Cucurbita pepo*: is auxin a key player? *Annals of Botany*. 2018. 122(5): 873–888.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 19-04-01079-а).

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *CLV1* и *TDR* У КАРТОФЕЛЯ

Полюшкевич Л.О. , Ганчева М.С., Додуева И.Е, Лутова Л.А.

Кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербургский Государственный Университет,  
Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9

[soslowhoshi@gmail.com](mailto:soslowhoshi@gmail.com)

Процессы, лежащие в основе гармоничного развития растительного организма, тонко регулируются разнообразными молекулярными механизмами и сигнальными путями. Так, путь отрицательной обратной связи *CLAVATA-WUSCHEL* поддерживает равновесие между делениями и пролиферацией клеток апикальной меристемы побега (АМП), а пути подобные ему регулируют активность апикальной меристемы корня (АМК) и латеральной меристемы - камбия. Одни из основных участников данных сигнальных путей – это рецепторы *CLAVATA1 (CLV1)*, *Tracheary Element Differentiation Inhibitory Factor Receptor (TDR)* и другие рецептор-подобные киназы с лейцин-богатыми повторами (leucine-rich repeat receptor-like protein kinases (LRR-RLKs)). Известно, что мутации в гене *CLV1* приводят к увеличению размеров АМП, а белок, кодируемый геном *TDR*, необходим для сбалансированного деления клеток камбия и их дифференциации в клетки ксилемы, т.е для регуляции утолщения побега. Таким образом, *TDR* и *CLV1* могут принимать участие в развитии запасяющих органов побегового происхождения. Задействованы ли гены *CLV1* и *TDR* в процесс развития клубней у картофеля? Какую роль они играют в клубнеобразовании? Цель нашей работы - поиск ответов на данные вопросы. У картофеля *Solanum tuberosum* var. *Désirée* мы идентифицировали 17 генов LRR-RLK, предположительно участвующих в клубнеобразовании, из которых один ген *StCLV1* и два гена *TDR (StTDR1* и *StTDR2)*. Проведен количественный анализ их экспрессии в различных частях клубня картофеля, начата работа по локальному анализу экспрессии *StCLV1*, *StTDR1* и *StTDR2* с помощью репортерного гена *eGFP*.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-34-00020

## ГЕНЫ *MtNF-YB* СОМАТИЧЕСКОМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ У *MEDICAGO TRUNCATULA*

Поценковская Э.А., Творогова В.Е., Лутова Л.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологий,  
Университетская набережная, 7/9, 199034, Санкт-Петербург, Россия  
[epots556@gmail.com](mailto:epots556@gmail.com)

Соматический эмбриогенез (СЭ) – это процесс, при котором незиготические клетки формируют эмбрионы, которые проходят через характерные стадии эмбрионального развития, в итоге формируя новое растение. Этот процесс широко используется в биотехнологии для трансформации растений, получения искусственных семян, а также для изучения процессов регенерации и зиготического эмбриогенеза. Поиск и изучение регуляторов СЭ важны для улучшения методик получения соматических эмбрионов.

Для гена *MtNF-YB10* с помощью ПЦР в реальном времени была показана активация экспрессии в ходе СЭ. Кроме того, мутанты с потерей функции этого гена в каллусной культуре, по-видимому, практически неспособны к образованию соматических эмбрионов. Эти данные позволяют предположить участие *MtNF-YB10* в СЭ.

Ближайшим гомологом гена *MtNF-YB10* у *Arabidopsis thaliana* является ген *LEC1*. Он задействован в развитии суспензора, ингибировании прорастания и формировании эмбриональных признаков.

*MtNF-YB10* принадлежит к семейству ТФ NF-YB, которые вместе с субъединицами NF-YA и NF-YC образуют гетеротример NF-Y, связывающий мотив ССААТ в ДНК. Была поставлена задача - выявить гетеротримерные комплексы NF-Y, которые работают в СЭ у люцерны.

С помощью ПЦР в реальном времени были обнаружены гены субъединиц NF-YB и NF-YA, демонстрирующие динамику повышения экспрессии в ходе СЭ. По результатам анализа генов семейства *MtNF-YB*, мы обнаружили, что близкий гомолог *MtNF-YB10* – ген *MtNF-YB3*, – также характеризуется значительным повышением уровня экспрессии в ходе СЭ. Среди генов *MtNF-YA* мы обнаружили четыре гена, характеризующиеся повышением уровня экспрессии в ходе СЭ – *MtNF-YA3*, 4, 7, 8. Среди семейства *MtNF-YC* таких генов обнаружено не было, однако некоторые из исследованных генов NF-YC демонстрировали в целом высокий уровень экспрессии в каллусах – *MtNF-YC1*, 2, 3, 7.

По результатам анализа взаимодействия перечисленных выше белков с помощью дрожжевой двугибридной системы можно сделать вывод о том, что в *Medicago truncatula* субъединица NF-YB3 взаимодействует с NF-YA8, NF-YC3 и NF-YC7; субъединица NF-YB10 – с NF-YA8, NF-YC3 и NF-YC7; субъединица NF-YA8 – с NF-YC3, но не взаимодействует с NF-YC7. В дальнейшем мы планируем проверить полученные данные с помощью метода бимолекулярной флуоресцентной комплементации.

Данная работа поддержана грантом РФФИ 1.53.917.2016.

## БАКТЕРИИ РОДА *BACILLUS* В ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ, КАРТОФЕЛЯ И ТОМАТОВ ОТ НАСЕКОМЫХ - ПЕРЕНОСЧИКОВ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ.

Румянцев С.Д., Веселова С.В., Бурханова Г.Ф., Алексеев В.Ю., Максимов И.В.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, 450054, Россия, Уфа, Проспект октября, 71.

[Rumyantsev-Serg@mail.ru](mailto:Rumyantsev-Serg@mail.ru)

Значительный ущерб сельско-хозяйственным растениям наносят насекомые отряда Hemiptera, к которым относятся белокрылки и различные тли. Эти насекомые являются переносчиками опасных фитопатогенных вирусов. Персиково-картофельная тля *Myzus persicae* передает многие фитопатогенные вирусы, включая вирусы картофеля Y (PVY), (PLRV) и вирус мозаики огурца во многих регионах мира. Злаковая тля *Schizaphis graminum* передает вирус желтой карликовости ячменя (BYDV, *Luteovirus*) и вирус желтой карликовости злаков (CYDV, *Poleovirus*), наиболее экономически важных вирусных заболеваний зерновых культур во всем мире. Некоторые бегомовирусы, такие как вирус желтой курчавости листьев томата (TYLCV), передаются табачной белокрылкой (*Bemisia tabaci*) и сохраняются в течение всей жизни насекомого. Ущерб, наносимый фитопатогенными вирусами, ежегодно оценивается во всем мире в миллиарды долларов. Большинство насекомых переносчиков вирусов контролируются экологически небезопасными химическими инсектицидами, но при этом развивают к ним резистентность. Из этого следует что, разработка эффективных биологических методов борьбы с насекомыми переносчиками вирусов является первостепенной задачей. В настоящее время, накапливаются многочисленные сведения об эффективной защите растений от вирусов препаратами на основе ризосферных и эндофитных бактерий и их метаболитов. Механизмы защиты растений от вирусной инфекции с участием бактерий и их метаболитов могут быть различными. Во-первых, бактерии (метаболиты) непосредственно сами могут связывать и разрушать вирусные частицы, за счет синтеза протеаз, нуклеаз и липопептидов. Во-вторых, опосредованно за счет синтеза инсектотоксичных метаболитов (Cry и Cyt токсинов, липопептидов) влияя на численность насекомых вредителей векторов вирусов. В-третьих, через активацию системной устойчивости хозяина различными бактериальными паттернами. В нашей работе обработка растений пшеницы штаммом *Bacillus subtilis* 26Д и штаммами *Bacillus thuringiensis* повышала выносливость растений пшеницы к злаковой тле *Schizaphis graminum*, увеличивала смертность тли, индуцировала системную устойчивость с помощью регуляции генерации активных форм кислорода, редокс-ферментов и экспрессии генов PR-белков маркеров салицилат- и жасмонат-сигнальных путей, таких как PR-1, PR-2, PR-6, PR-9, также в обработанных растениях повышалась активность ингибиторов протеиназ, накапливались растворимые фенольные соединения и лигнин.

Данная работа была выполнена в рамках соглашения РНФ №19-46-02004

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ТРАНСЛОКАЦИЙ ОТ *AEGILOPS SPELTOIDES* TAUSCH НА ЗИМОСТОЙКОСТЬ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ЛИСТОВОЙ РЖАВЧИНЕ У ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Стасюк А.И.<sup>1</sup>, Леонова И.Н.<sup>1</sup>, Салина Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10;  
[stasyuk@bionet.nsc.ru](mailto:stasyuk@bionet.nsc.ru)

Дикие и культурные сородичи пшеницы часто используются для обогащения ее генома полезными генами. Вид *Aegilops speltoides* Tausch является одним из таких источников, который содержит ряд генов устойчивости к грибным болезням. Целью работы был отбор с помощью молекулярных маркеров озимых форм мягкой пшеницы, содержащих транслокации от *Ae. speltoides*, полученных в результате гибридизации озимых сортов с яровыми донорами генов устойчивости, и их оценка по перезимовке и устойчивости к бурой ржавчине. Материалом послужили растения, полученные от скрещивания озимых сортов мягкой пшеницы Новосибирская 3 и Новосибирская 40 с яровыми интрогрессивными линиями 11-8 и 21-4. Используемые озимые сорта являются адаптированными к условиям Западной Сибири и обладают хорошей зимостойкостью и продуктивностью, но чувствительны к большинству рас бурой ржавчины. Яровые интрогрессивные линии 11-8 и 21-4 характеризуются наличием транслокаций с локусами устойчивости к бурой ржавчине от *Ae. speltoides* в хромосомах 7D и 5B, соответственно. При помощи ПЦР с аллель-специфичными праймерами был проанализирован аллельный состав *Vrn-1* генов у родителей и гибридов F<sub>2</sub>. Для отбора растений, несущих транслокации в 7D хромосоме, был использован SSR маркер *Xgwm130*. Для идентификации локуса интрогрессии в хромосоме 5B использовали разработанные праймеры *Pr1/Pr5*. С помощью маркеров было отобрано 90 гомозиготных озимых растений, из них 32 растения содержали интрогрессии. Оценку зимостойкости и устойчивости к бурой ржавчине проводили с 2015 по 2018 гг. Отобрано 12 линий из комбинации Новосибирская 3 × 11-8, у которых зимостойкость была выше родительского сорта. Из них 4 линии несли транслокацию в 7D хромосоме от *Ae. speltoides*. В других комбинациях различий по перезимовке не выявлено. Показано, что все растения, несущие транслокации, были устойчивы к бурой ржавчине.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ 16-16-00011.

## ОЦЕНКА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ ОБРАБОТКЕ ПРОРОСТКОВ ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО ИЗОЛЯТАМИ *FUSARIUM*

Сысолятин Е.Н.<sup>1</sup>, Анисимова Н.А.<sup>1</sup>, Анохина В.С.<sup>2</sup>, Кильчевский А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, ул. Академическая 27;

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, Беларусь, Минск, пр. Независимости, 4  
[Meeuigeny@yandex.ru](mailto:Meeuigeny@yandex.ru)

Эффективность селекционной работы по созданию сортов люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.), устойчивых к грибным инфекциям, зависит от понимания молекулярно-генетических механизмов формирования защитного ответа и выявления обеспечивающих его генетических факторов.

Целью работы является оценка дифференциальной экспрессии и выявление генетических детерминант устойчивости к фузариозу у люпина узколистного (*Lupinus angustifolius* L.).

Для поиска новых генетических детерминант, определяющих устойчивость люпина к грибным патогенам, нами использован метод SRAP (Sequence-related amplified polymorphism) анализа, основанный на амплификации открытых рамок считывания.

Комплементарную ДНК (кДНК) синтезировали на матрице РНК, выделенной из корней 10-дневных проростков сортов люпина узколистного (Ашадный, Yortel, Frost, Немчиновский 846), интактных и подвергнутых воздействию культуры возбудителя фузариоза (*Fusarium* L.). Проведена серия ПЦР с комбинациями из 3 прямых (Me8, f12, f16) и 4 обратных (Em5, Em12, r14, r9) SRAP-праймеров [1, 2]. ПЦР-фрагменты, ассоциированные с устойчивостью, были выделены и секвенированы. Их предполагаемая функция назначена на основе выравнивания с известными последовательностями из баз данных GenBank и поиска консервативных доменов.

При электрофоретическом разделении продуктов ПЦР 12 возможных комбинаций праймеров дали в общей сложности 234 четких бэнда. Доля полиморфных полос варьировала в пределах от 66,7% до 100%.

Наличие на SRAP профилях фрагментов f12-r14-290 и f16-Em12-1100 положительно коррелировало с длиной гипокотилия в группе проростков, обработанных возбудителем фузариоза. Это свидетельствует об индукции экспрессии генетических детерминант, которые, вероятно, участвуют в формировании защитной реакции растения. Восприимчивые к фузариозу проростки, обработанные изолятами фузариума, характеризовались наличием фрагментов f12-r9-480 и f12-r14-250.

Секвенирование фрагмента f12-r14-290, ассоциированного с невосприимчивостью к фузариозу и биоинформатический анализ показали наличие домена SNARE, характерного для синтаксин-связывающих белков (STBP), участвующих в процессах экзоцитоза и вовлеченных в механизмы неспецифической устойчивости растений к патогенам.

Полученные результаты указывают на то, что метод SRAP эффективен для анализа кДНК люпина узколистного и может быть использован для изучения дифференциальной экспрессии генов этой культуры. Выявлены локусы, экспрессия которых индуцируется у растений люпина под воздействием патогена.

Ссылки:

[1] N. Mutlu et al. Development of SRAP, SRAP-RGA, RAPD and SCAR markers linked with a *Fusarium* wilt resistance gene in eggplant // 2008, Theor Appl Genet., V. 117, N. 8, P. 1303-1312.

[2] J.-X. Ma et al. Genetic diversity of wild *Medicago sativa* by sequence-related amplified polymorphism markers in Xingjiang region, China // 2013, Pak. J. Bot., V. 45, N. 6, P. 2043-2050.

## SOURCES OF THE HIGH MOLECULAR WEIGHT GLUTENIN SUBUNIT ALLELES RELATED TO GOOD BREAD-MAKING QUALITY IN EUROPEAN SPRING AND WINTER WHEAT CULTIVARS

Tikhonova M.A. , Ingver A., Koppel R.

Estonian Crop Research Institute , Estonia, Jõgeva, J. Aamisepa, I  
[marina.tikhonova@etki.ee](mailto:marina.tikhonova@etki.ee)

Bread-making quality is important trait for wheat breeding programs. Numerous studies have demonstrated that high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) of wheat grain storage proteins, which are components of gluten, play a major role in the determination of wheat bread-making properties and variably affect dough and end product quality. HMW glutenins are encoded by genes at the *Glu-1* loci of the genomes A, B, and D.

In this study, 67 old and modern European bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars (36 spring and 31 winter) from Estonian Crop Research Institute genetic collection were screened by 14 PCR markers for the presence of the alleles positively associated with bread-making quality and having higher (3-4) Payne index (*Glu-1* quality score) [1]: subunits (alleles) Ax1 (*a*) or Ax2 (*b*) controlled by the locus *Glu-A1*; Bx7+By8 (*b*), Bx14+By15 (*h*), Bx13+By16 (*f*) at *Glu-B1* locus; and Dx5+Dy10 (*d*) controlled by the locus *Glu-D1*. The presence of 1BL.1RS rye translocation, which has been associated to low quality [2], was also detected with DNA marker.

Twenty nine spring and sixteen winter wheat genotypes tested positive for the *Glu-A1a* (1) and *Glu-A1b* (2) alleles and negative for *Glu-A1c* (null). Fifteen spring and five winter wheat genotypes carry exclusively alleles *b* (7+8), *f* (13+16) or *h* (14+15) at *Glu-B1* locus. Twenty seven spring and twenty five winter wheat cultivars were identified as the donors of the allele *Glu-D1d* (5+10). Translocation 1BL.1RS was revealed in spring wheat cultivar Hamlet.

Spring wheat cultivars Bombona, Hiie, Kruunu, Mahti, Manu, Runar, Specifik, SW Kadriļj and winter wheat Hanno combine alleles with high quality score at all three *Glu-1* loci in their genotypes. Most of the investigated cultivars demonstrate high yield and diseases resistance and can be recommended as parents in breeding programmes for improving of wheat bread-making quality.

[1]. Payne P.I. et al., The relationship between HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of british-grown wheat varieties. // 1987, J. Sci. Food Agric., V.40, P.51-65.

[2]. Kumlay A.M. et al., Understanding the effect of rye chromatin in bread wheat. // 2003, Publications from USDA-ARS / UNL Faculty. 906.

## ПРОВЕДЕНИЕ ПОЛНОГЕНОМНОГО ПОИСКА АССОЦИАЦИЙ МЕЖДУ МОЛЕКУЛЯРНЫМИ МАРКЕРАМИ И ИЗМЕНЧИВОСТЬЮ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ НОВОЙ БОБОВОЙ КУЛЬТУРЫ – ГУАРА (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.)

Ульянич П.С.<sup>1</sup>, Григорьева Е.А.<sup>1</sup>, Rabanus-Wallace M. Timothy<sup>2</sup>, Потокина Е.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр, Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, Большая Морская ул., 42;

<sup>2</sup>Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Germany, Gatersleben (Corrensstraße 3, 06466)

[p.ulianich@gmail.com](mailto:p.ulianich@gmail.com)

Гуар (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) - однолетнее бобовое растение, которое традиционно возделывается в Индии и Пакистане как кормовая и овощная культура, был интродуцирован на территорию РФ недавно. Повышенный интерес к гуару объясняется высоким содержанием в семенах полисахарида галактоманнана, способного при низких концентрациях гидратироваться в холодной воде с образованием вязкого коллоидного раствора – гуаровой камеди, используемой в качестве загустителей и стабилизаторов в пищевой, газовой и нефтяной промышленности. Одна из задач, представляющих интерес для промышленности и сельского хозяйства РФ - создание сортов и селекционных линий гуара, адаптированных к условиям возделывания на территории РФ. Эта задача может быть решена с использованием современных методов маркер-вспомогательной селекции.

В проведенном нами исследовании выборка из 192 линий гуара разного географического происхождения, контрастных по морфологическим и физиологическим характеристикам, была генотипирована с использованием высокопроизводительного секвенирования (RAD-Sequencing). Более 480 млн прочтений последовательностей ДНК (150 пн) было получено для 192 растений в анализе. Для поиска SNP использовался референсный геном близкородственного вида сои (*Glycine max* (L.) Merr.). В результате идентифицировано более 1000 SNPs, которые были использованы для проведения полногеномного поиска ассоциаций с изменчивостью 10 хозяйственно-ценных признаков гуара. Полевая оценка скороспелости, урожайности, устойчивости к болезням и других признаков у 192 растений гуара проводилась в условиях Краснодарского края в 2017-2018 гг. Выявленные ассоциации позволяют перейти к разработке молекулярных маркеров, сцепленных с изменчивостью ценных хозяйственных признаков, что обеспечивает перспективу маркер-опосредованной селекции новых сортов гуара с повышенным адаптивным потенциалом и получения нового растительного сырья для нужд пищевой, нефтяной и газовой промышленности.

**Благодарности:** Исследование выполнено при поддержке Минобрнауки РФ в рамках проекта RFMEFI60417X0168 (соглашение № 14.604.21.0168).

## ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ГОРОХА В СЕЛЕКЦИИ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ

Хабибуллин К.Н., Ашиев А.Р.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «АГРАРНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР «Донской», Россия, г. Зерноград, Научный городок, 3  
[kira1992k@yandex.ru](mailto:kira1992k@yandex.ru)

Горох — основная зерновая бобовая культура и использование его разнообразно. Сорт — одна из главных составляющих для получения высоких урожаев. Результат селекционной работы во многом зависит от правильного подбора исходного материала. Одним из методов получения исходного материала в селекции растений является гибридизация. Правильный подбор родительских форм для гибридизации — залог получения высокопродуктивного сорта.

**Цель исследований** — выделить источники хозяйственно-ценных признаков для селекции новых высокоурожайных сортов гороха с высоким качеством семян.

**Задачи исследований:**

- изучить коллекционный материал по морфобиологическим и хозяйственно-ценным признакам и свойствам;
- выделить источники ценных признаков для селекции гороха, сочетающие в себе комплекс хозяйственно-ценных признаков и свойств;

Объектами исследования являлись 174 образца гороха из мировой коллекции ВИГРР им. Н.И. Вавилова, селекционные линии и сорта гороха собственной селекции, других научно-исследовательских учреждений России и зарубежья.

Исследования проводились на полях лаборатории селекции и семеноводства зернобобовых культур ФГБНУ «АНЦ» Донской» в 2017-2018 гг.

**Коллекционные образцы проанализированы по хозяйственно-ценным признакам и свойствам.**

По типу листа интерес представляют: 85 усатых и 3 рассеченно-листочковых, хамелеонов - 4, люпиноидов — 1.

Большинство образцов коллекции имеют признак неосыпаемости семян.

Наибольшими показателями семенной продуктивности отличились образцы:

- по количеству продуктивных междоузлий на растении - DSS-455 (Литва), К-4426 (Югославия);
- по количеству бобов на растении - Шустрик (Россия), Л-26120 (Россия), К-5959 (Португалия);
- по количеству семян в бобе - Самариус (Россия), Полет (Белоруссия), Neve (Франция), Зимующий BR 497 (Югославия);
- по количеству семян с растения - К-9164 (Россия), 221/73 (Украина), 193/73 (Украина), 269/73 (Украина), Е.С.26140 (Индия);
- по массе 1000 семян - Памяти Хангильдина (Россия), Аз-97-775 (Россия), Флагман 10 (Россия), Демос (Россия), Л-26253 (Россия), Кудесник (Белоруссия);
- по массе семян с растения - Ватан (Россия), Мутант 561 (Россия), Л-23120 (Россия), Демос (Россия), Л-26253 (Россия), Аванс (Россия), 193/73 (Украина), Кудесник (Белоруссия), Нја 51824 (Финляндия), Дамир (Дания),
- по содержанию белка в зерне — Аванс (Россия), Л-26253 (Россия), Рамонский 90 (Россия), Приазовский (Россия), Усатый люпиноид (Россия), Усач (Украина), Consort (Великобритания), 19/91С (Португалия), R-4006 (Польша), Дамир (Дания).

## АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА КЛТ-ДНК У *N. TABACUM*

Хафизова Г.В.<sup>1</sup>, Матвеева Т.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная 7-9, 199034

[galina.khafizova@gmail.com](mailto:galina.khafizova@gmail.com)

Клеточная Т-ДНК (клТ-ДНК) – это последовательности, гомологичные агробактериальным Т-ДНК, полученные растениями в результате горизонтального переноса генов. На сегодняшний день известно о наличии клТ-ДНК в геномах представителей трех родов растений: *Nicotiana*, *Linaria* и *Ipomea*, из них наиболее хорошо изучены представители рода *Nicotiana*. Один из самых широко используемых видов данного рода – *Nicotiana tabacum* (культурный табак) – является аллотетраплоидом, образованным путем межвидовой гибридизации *N.sylvestris* и *N.tomentosiformis*, и содержит в своем геноме клТ-ДНК, полученные от родительского вида *N.tomentosiformis* [1]. Результаты анализа клТ-ДНК в геномах видов *N.tomentosiformis* и ряда сортов *N.tabacum* показали различия в количестве и составе вставок как между двумя видами, так и между сортами внутри одного вида. Так, например, геном родительского вида *N.tomentosiformis* содержит 4 различающиеся по составу вставки (ТА, ТВ, ТС, TD), в то время как геном культурного табака – 3 (ТА, ТВ, TD). В ряде сортов *N.tabacum* (Basma Drama, Samsoun, Xanthi) в центральной части вставки ТА имеется протяженная делеция длиной 9684 п.н., тогда как у других проанализированных сортов (Wisconsin 38, Navana 425) во вставке ТА подобной делеции нет. В данный момент филогенетические отношения сортов в пределах вида *N.tabacum* не установлены, сорта имеют разное происхождение. В качестве попытки уточнить филогению внутри вида *N.tabacum* для 8 сортов был проведен сравнительный анализ участков межгенных последовательностей и генов, сохранивших рамку считывания, в самой молодой (ТА) и в самой древней (ТВ) клТ-ДНК в геноме культурного табака. Результаты анализа показали, что все изученные фрагменты имеют 99-100% уровень сходства н.п., вследствие чего построение филогении рода на основе этих данных оказалось невозможным. В свою очередь, использование делеции во вставке ТА в качестве маркера позволяет разделить сорта внутри вида *N. tabacum* на группы по происхождению. Таким образом, полиморфизм клТ-ДНК у *N. tabacum* может быть использован для изучения филогенетических отношений в пределах данного вида.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-016-00118 с использованием оборудования ресурсного центра «РМКТ» научного парка СПбГУ.

[1]. Chen K., Dorlhac de Borne F., Szegedi E., Otten L., Deep sequencing of the ancestral tobacco species *Nicotiana tomentosiformis* reveals multiple T-DNA inserts and a complex evolutionary history of natural transformation in the genus *Nicotiana*. // 2014, Plant Journal, V.80, P.669-682.

## СОВМЕСТНОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ *DDW1* И *VRN-A1* В ГЕНОМЕ ЯРОВОЙ ТРИТИКАЛЕ В УСЛОВИЯХ ПОЛЕВОГО ОПЫТА

Черноок А.Г.<sup>1,2</sup>, Крупин П.Ю.<sup>1,2</sup>, Карлов Г.И.<sup>1</sup>, Дивашук М.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИСБ, Россия, Москва, 127550 Тимирязевская ул., 42

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева,

Россия, Москва, 127550 Тимирязевская ул., 49

[irbis-sibri@ya.ru](mailto:irbis-sibri@ya.ru)

Тритикале с каждым десятилетием занимает всё большие площади по всему миру, при этом зерно этой культуры находит самое разнообразное применение от кормового до производства биотоплива. Однако требуется дальнейшее селекционно-генетическое улучшение тритикале, что позволит расширить арсенал генов хозяйственно-ценных признаков и получить новые более совершенные формы. Одним из таких признаков яровой тритикале, нуждающихся в улучшении, является склонность к полеганию и позднеспелость. Среди генов низкостебельности сильным эффектом обладает ген ржи *Ddw1*, перенесенный в геном озимой тритикале, но не встречающийся в яровой [1]. Поведение генов пшеницы и ржи в геноме тритикале, отвечающих за высоту растения и темпы его развития, требует тщательного изучения, так как к их независимому проявлению добавляются эффекты их взаимодействия.

Целью нашего исследования состояла в определении эффектов гена ржи *Ddw1* и аллелей генов яровизации пшеницы *Vrn-A1a/Vrn-A1b* на высоту растений яровой тритикале, темпы развития и другие хозяйственно-ценные признаки. Объектом исследования служила популяция  $F_3$  Хонгор (*Ddw1 Vrn-A1b*) $\times$ Дублет (*ddw1 Vrn-A1a*), выращенная в 2017 году на Полевой опытной станции РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева. Семьи генотипировались с помощью ПЦР-маркеров [2, 3], фиксировались фазы цветения и колошения, измерялась высота растений и элементы структуры урожая.

В среднем по популяции присутствие *Ddw1* снижало высоту растений на 33.3 см (28%), присутствие *Vrn-A1b* дополнительно снижало высоту растений и количество междоузлий. При этом присутствие *Vrn-A1b* на фоне *Ddw1* снижает длину колоса на 0,8 см (7%), число колосков на 2 шт. (8%) и продуктивную кустистость на 1,0 (45%) по сравнению с *Vrn-A1a*. *Ddw1* в присутствии как *Vrn-A1a* увеличивало плотность колоса на 6%, а в присутствии *Vrn-A1b* – на 7%. Растения с *Ddw1* имели значимо меньшую массу зерна с главного колоса в среднем по популяции на 0.7 г (19%), чем без него и в среднем цвели и колосились на неделю позже, чем без гена; наличие *Vrn-A1b* ускоряло наступление цветения и колошения. Таким образом, в целом *Ddw1* снижал высоту растений, негативно сказываясь на массе зерна с колоса и удлиняя период до цветения и колошения. Аллель *Vrn-A1b*, напротив, ускоряет цветение и колошение, однако, видимо, не давая достаточно времени сформироваться генеративным органам, так как в целом также негативно влияет на продуктивность растения во взаимодействии с *Ddw1*.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-76-20023.

[1]. Korshunova A. D., Divashuk M. G., Soloviev A. A., Karlov G. I. Analysis of Wheat and Rye Semidwarfing Gene Distribution in Spring Hexaploid Triticale (*Triticosecale* Wittm.) Cultivars and Breeding Lines. // 2015, Russian Journal of Genetics, 51(3), P. 272–277.

[2]. Коршунова А.Д., Дивашук М.Г., Даебль И.А.М.А., Карлов Г.И., Соловьёв А.А. Валидация ДНК-маркеров генов короткостебельности у тритикале (*Triticosecale* Wittm. ) // 2014, Известия ТСХА, 3, с. 21-31.

[3]. Черноок А.Г., Дивашук М.Г. Разработка CAPS маркера, ассоциированного с геном короткостебельности *Ddw1* // 2018 Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии. Сборник тезисов XVIII Всероссийской конференции молодых учёных, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева, с. 129-130.

## КОРМОВАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУДАНСКОЙ ТРАВЫ

Шишова Е.А.

ФГБНУ «АНЦ «Донской», 347740, Россия, г. Зерноград, Научный городок, 3,  
[shischovae@yandex.ru](mailto:shischovae@yandex.ru)

Засухоустойчивость, высокая продуктивность, хорошее качество зеленой массы и сена, способность отрастать после скашивания – все это делает суданскую траву незаменимой в зеленом конвейере.

Цель исследований – изучить признаки, определяющие качество зеленой массы суданской травы, в том числе урожайность абсолютно-сухого вещества и переваримого протеина.

Полный зоотехнический анализ проведен у 200 образцов коллекции суданской травы.

Содержание сухого вещества в зеленой массе образцов коллекции варьировало от 11,0 до 25,6%, при среднем значении по коллекции 19,2%. Наибольшие значения показателя (22,3-25,6%) отмечены у образцов К-204, К-62, К-10257, К-280/201/1, Алиса, Донецкая 8, И-613064, К-120, Озорница.

По содержанию сырого протеина в сухом веществе зеленой массы суданской травы наблюдалось варьирование в пределах 8,6-17,9%. Следует отметить образцы К-392/2, Изумрудная, К-262/1, К-224/1, К-229/2, Лири 4, К-49 с содержанием сырого протеина в сухом веществе в пределах 16,3-17,6%.

Сырой жир – источник энергии, образования жирных кислот, носитель жирорастворимых витаминов. Содержание жира в сухом веществе у образцов коллекции колебалось от 1,1 до 3,7%. По данному показателю наибольшие значения имели образцы К-224/1 – 3,6%, Лири 4 – 3,7%, К-347/2 – 3,8%, К-446 – 3,8%.

Количество золы в корме является показателем богатства его элементами минерального питания. Содержание золы в сухом веществе варьировало от 6,8 до 12,1%. Наибольшие значения отмечены у Омут – 10,3%, ВИР-2 – 10,7%, К-291 – 12,1%.

К безазотистым веществам относятся углеводы (крахмал и сахара). Варьирование данного показателя в коллекции суданской травы наблюдалось в пределах 33,9-46,8%, среднее значение по коллекции 41,9%. Наибольшее содержание БЭВ в сухом веществе зеленой массы отмечено у образцов К-347/2 – 45,1%, К-446 – 45,6%, К-120 – 45,5%, Черносемянная 181/2 – 46,8%.

Урожайность абсолютно-сухого вещества зеленой массы суданской травы имела значения 52,6-1289,5 г/м<sup>2</sup>. Наибольшие значения данного признака (1018,5-1289,5 г/м<sup>2</sup>) отмечены у образцов: Светлопленчатая 3, К-194, К-280/201, К-498/2. Сбор переваримого протеина варьировал от 10,8 до 300,1 г/м<sup>2</sup>. По данному показателю выделились образцы: Судвен 192 – 241,3 г/м<sup>2</sup>, К-194 Гибридная – 248,9 г/м<sup>2</sup>, Светлопленчатая 3 – 259,5 г/м<sup>2</sup>, К-498/2 – 275,4 г/м<sup>2</sup>, К-280/201 – 300,1 г/м<sup>2</sup>.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЧАСТИЧНОГО АЛЬБИНИЗМА ЯЧМЕНЯ С ПОЗИЦИИ ТРАНСКРИПТОМИКИ

Шмаков Н. А.<sup>1</sup>, Глаголева А.Ю.<sup>1</sup>, Афонников Д.А.<sup>1</sup>, Хлёткина Е.К.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт Цитологии и Генетики СО РАН, РФ, Новосибирск пр. Лаврентьева, 10;

<sup>2</sup>Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, РФ, Санкт-Петербург, ул.Большая Морская, 42-44

[shmakov@bionet.nsc.ru](mailto:shmakov@bionet.nsc.ru)

Хлорофилл – растительный пигмент, участвующий в фотосинтезе. Отсутствие хлорофилла в клетках растения приводит к преждевременной гибели организма. Однако отмечены случаи частичного альбинизма, при котором растение может достичь репродуктивного возраста и оставить потомство. Изучение таких растений может пролить свет на особенности синтеза и распределения хлорофилла и функционирования хлоропластов. Перспективным объектом для изучения таких процессов является линия ячменя i:BwAlm, отличающаяся частичным альбинизмом.

Транскриптом – совокупность всех транскриптов биологического образца. Исследования транскриптома дают сведения об экспрессии генов в масштабе всего генома. RNA-seq – наиболее производительный метод исследования транскриптома. В данной работе метод RNA-seq был использован для секвенирования транскриптомов линии ячменя i:BwAlm и контрольной линии Bowman.

Сравнение транскриптомов двух линий выявило различия в экспрессии ряда генов, включая гены, локализованные в геноме хлоропласта. Были выявлены метаболические пути, включающие гены с разницей в экспрессии между двумя линиями. *De novo* сборка транскриптома позволила предсказать существование ранее не аннотированных генов ячменя, включая гены устойчивости к листовой ржавчине.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ № 18-14-00293

## ВЫЯВЛЕНИЕ ДНК-МАРКЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С МОРФОЛОГИЕЙ ГРАНУЛ КРАХМАЛА В КОЛЛЕКЦИИ КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM TUBEROSUM L.*

Эрст Т.В.<sup>1</sup>, Розанова И.В.<sup>1</sup>, Хлесткин В.К.<sup>1,2</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск;

<sup>2</sup> СПБФ ФГАНУ НИИХП, Россия, Санкт-Петербург.

<sup>3</sup> ВИР, Россия, Санкт-Петербург.

[erst@bionet.nsc.ru](mailto:erst@bionet.nsc.ru)

Полимеры, составляющие крахмал, упаковываются в процессе образования картофельного клубня в гранулы слоистой структуры, состоящей из чередующихся кристаллических и аморфных слоев. Изучение морфологических параметров гранул может дать более глубокое понимание биохимического механизма их образования и реакционной способности при (био)химических превращениях. Морфология гранул крахмала и их размер в первую очередь определяются генами биосинтеза крахмала [1], в частности, генами, которые кодируют ферменты SBEI и SBEII (Starch Branching Enzyme), разветвляющие крахмальные цепи [2]. Однако можно предположить, что спектр генов, влияющих на морфологию гранул, более широк, чем структурные гены биосинтеза крахмала. Цель настоящей работы – поиск геномных районов, ассоциированных с параметрами, определяющими морфологию гранул картофельного крахмала, путем полногеномного анализа ассоциаций (genome-wide association studies - GWAS) при использовании данных генотипирования 90 сортообразцов сибирской коллекции при помощи чипа Illumina 22K SNP potato array. Оценка гранул крахмала проводилась по таким параметрам как площадь проекции гранулы в кадре, соотношение площади к наибольшему диаметру, соотношение площади к выпуклой области, округлость, наибольший и наименьший диаметр частицы и их соотношение по методике, описанной ранее [3]. Данные, полученные в результате фенотипирования и генотипирования, обрабатывались с помощью программ Microsoft Excel, Tassel 5 и пакета R. Для параметров, характеризующих округлость/вытянутость были выявлены два основных района – в хромосомах 2 и 11. Отдельные значимые SNP выявлялись для ряда характеристик также в хромосомах 4 и 7. Проводится детальное изучение выявленных геномных районов. ДНК-полиморфизм, ассоциированный с изменчивостью по морфологическим свойствам гранул крахмала, позволит сконструировать удобные ПЦР-маркеры, которые в случае успешной валидации станут удобным инструментом для целенаправленного отбора селекционных гибридов с заданными характеристиками клубневого крахмала.

1. Yamamori M., Fujita S., Hayakawa K., Matsuki J., Yasui T., Genetic elimination of a starch granule protein, SGP-1, of wheat generates an altered starch with apparent high amylose.//2000, Theor. Appl. Genet., №. 101, P.21-29.

2. Hofvander P., Andersson M., Larsson C.-T., Larsson H., Field performance and starch characteristics of high amylose potatoes obtained by antisense gene targeting of two branching enzymes.//2004, Plant Biotechnol. J., №. 2, P.311-320.

3. Хлесткин В.К., Эрст Т.В., Практическое руководство по оценке морфологии гранул картофельного крахмала методом микроскопирования.//2017, Вавиловский журнал генетики и селекции, №. 6. P.728-734.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ (проект № 17-29-08006).

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКА VPg ВИРУСА Y С БЕЛКАМИ СЕМЕЙСТВА 4E ТАБАКА

Юрина А.Д.<sup>1,2</sup>, Лебедева М.В.<sup>1</sup>, Злобин Н.Е.<sup>1</sup>, Бабаков А.В.<sup>1</sup>, Таранов В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Россия, г. Москва, ул.Тимирязевская 42;

<sup>2</sup>Сколковский институт науки и технологий, Россия, г. Москва, Большой бульвар д.30, стр.1  
[Angelika.Yurina@skoltech.ru](mailto:Angelika.Yurina@skoltech.ru)

Вирус Y картофеля (PVY) - один из самых вредоносных вирусов, поражающих картофель, при этом он поражает и другие сельскохозяйственные культуры семейства *Solanaceae* (томат, перец, баклажан). Ранее было показано, что важным фактором восприимчивости к PVY является эукариотический фактор инициации трансляции eIF4E, поскольку для трансляции вирусной РНК в клетках растения необходимо взаимодействие фактора eIF4E с вирусным белком VPg.

Факторы инициации трансляции 4E представляют собой семейство генов с делением на три группы eIF4E-1, eIF4E-2, eIF4E(iso). В геноме модельного растения *N.tabacum*, которое является аллотетраплоидом, появившимся вследствие гибридизации диплоидных видов *N. tomentosiformis* (субгеном Т) и *N. Sylvestris* (субгеном S), идентифицировано 8 генов данного семейства. Не смотря на высокий уровень гомологии между белками eIF4E, было показано, что делеции гена eIF4E-1 (S) в геноме *N.tabacum* достаточно для появления устойчивости к PVY у ранее восприимчивых растений [1]. Тем не менее, появился рекомбинантный штамм PVY, способный обходить данный тип устойчивости [2]. Мы предполагаем, что мутации, появившиеся в VPg, позволили PVY задействовать факторы групп eIF4E-2 и eIF4E(iso).

Для проверки данной гипотезы нами были клонированы гены семейства 4E табака в вектора для дрожжевого двугибридного анализа. В качестве партнера по взаимодействию для изучения белок-белкового взаимодействия был клонирован VPg патотипа NTN. В нашей работе было показано, что помимо взаимодействия с eIF4E-1 (S), VPg<sup>NTN</sup> также способен взаимодействовать с eIF4E-1 (T) и eIF4E(iso) (S), однако с меньшим сродством, чем с eIF4E-1 (S).

[1]. Charron C. *et al*, Natural variation and functional analyses provide evidence for co-evolution between plant eIF4E and potyviral VPg. // 2008, *The Plant Journal* 54.1: 56-68.

[2]. Masuta, Chikara, *et al*. "A single amino acid change in viral genome-associated protein of potato virus Y correlates with resistance breaking in 'Virgin A Mutant' tobacco. //1999 *Phytopathology* 89.2: 118-123.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Государственного задания № 0574-2019-001

## GENE CLONING WITHIN *TRITICUM MILITINAE* REGION INTROGRESSED IN TO LARGE AND COMPLEX GENOME OF WHEAT

Janáková E.<sup>1</sup>, Jakobson I.<sup>2</sup>, Peusha H.<sup>2</sup>, Abrouk M.<sup>1</sup>, Škopová M.<sup>1</sup>, Timofejeva L.<sup>2</sup>,  
H.Šimková<sup>1</sup>, J. Šafář<sup>1</sup>, J.Vrána<sup>1</sup>, J.Doležel<sup>1</sup>, K. Järve<sup>2</sup>, M.Valárik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Experimental Botany, Centre of the Region Haná for Biotechnological and Agricultural Research, Šlechtitelů 31, Olomouc, CZ- 78371, Czech Republic;* <sup>2</sup>*Department of Gene Technology, Tallinn, Estonia; Present address: Limagrains Central Europe Cereals, s.r.o., Hrubčice 111, 79821 Bedihošť, Czech Republic*

[valarik@ueb.cas.cz](mailto:valarik@ueb.cas.cz)

Increasing of genepool variability using secondary and tertiary genepools is an attractive way how to overcome limitation of narrowed bread wheat genepool due to intensive breeding. Such introgressions are usually accompanied by recombination inhibition which limits high-density mapping and gene cloning. Recent introgression of *T. militinae* segment of 7G chromosome into 4AL chromosome of bread wheat cv. Tähti confers improved race nonspecific resistance to powdery mildew in both seedling and adult plant stages. The resistance locus *Q<sub>Pm-tut.4A</sub>* was located in the distal part of the chromosome between markers *owm82* and *Xgwm160*. In an attempt to clone the *Q<sub>Pm-tut.4A</sub>* gene several genomic resource were developed to facilitate the gene cloning. In the 1600 lines of mapping population derived from cross of cv. Tähti and the introgressive line 8.1 no recombination was detected in the locus. On the other hand, screening of 8425 lines derived from the cross of the line 8.1 and cv. Chinese Spring yielded 30 lines with recombination in the locus and allowed to delimit the *Q<sub>Pm-tut.4A</sub>* locus to 0.012 cM. Moreover, screening of 1225 lines of mapping population from the same cross but with *ph1b* in homozygous stage yielded additional 155 recombinations in the *owm82 - Xgwm160* region. Four of them were within the 0.012 cM *Q<sub>Pm-tut.4A</sub>* locus. A 26 BAC clones from the 4AL chromosome specific BAC library constructed from chromosome arm with the introgression bypassed the *Q<sub>Pm-tut.4A</sub>* locus. Their sequences delimited the region in *T. militinae* to 480 kbp in contrast to the 640 kbp in cv. Chinese Spring. Annotation revealed 12 candidate genes from which only four are syntenic between the parental lines. The candidates will be validated using TILLING population in which 2200 lines seven were identified as susceptible. This work was supported by Czech Republic Ministry of Education, Youth and Sports (Award LO1204 from the National Program of Sustainability I), by the Czech Science Foundation (Award 18-11688S), the Czech Republic Ministry of Agriculture (Award QK1710302) and by an IUT 193 Grant from the Estonian Ministry of Education and Research..

## MARKER-TRAIT ASSOCIATIONS IN SPRING WHEAT GENETIC PANELS STUDIED IN KAZAKHSTAN

Turuspekov Y.<sup>1</sup>, Amalova A.<sup>1</sup>, Genievskaia Y.<sup>1</sup>, Abdikhalyk A., Babkenov A.<sup>2</sup>, Rsaliyev A.<sup>3</sup>, Abugalieva S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan*

<sup>2</sup>*Barayev Research and Production Center of Grain Farming, Shortandy, Kazakhstan*

<sup>3</sup>*The Research Institute for Biological Safety Problems, Otar, Kazakhstan*

*yerlant@yahoo.com*

Spring wheat is the largest agricultural crop grown in Kazakhstan with an annual sowing area of 12 million hectares in 2018. Annually, the country harvests around 15 million tons of high quality grain. Despite environmental stress factors, it is predicted that the use of new technologies may lead to increases in productivity from current levels of 1.5 to up to 3 tons per hectare. One way of improving wheat productivity is by the application of new genomic oriented approaches in plant breeding projects. In this study, phenotyping and genotyping data on spring wheat accessions from Kazakhstan, Russia, and Europe were assessed for the identification of marker-trait associations (MTA) of agronomic traits by using genome-wide association study (GWAS) and two bi-parental mapping populations (BPMP).

Field trials in Northern, South and South-eastern regions of Kazakhstan using GWAS and BPMP revealed strong correlations of yield with booting date, plant height, biomass, number of spikes per plant, and number of kernels per spike. The genetic variation in the three groups of accessions was further studied using 3245 polymorphic SNP (single nucleotide polymorphism) markers. The application of Principal Coordinate analysis clearly grouped the 194 accessions into three clades according to their breeding origins. GWAS and BPMP approaches from two field trials allowed the identification of MTAs for 12 different agronomic traits, associated with plant adaptation, yield-related components, and disease resistance.

Field evaluation of foreign germplasm revealed its poor yield performance in Northern Kazakhstan, which is the main wheat growing region in the country. However, it was found that EU germplasm has high breeding potential to improve yield performance in South and South-eastern regions. The study identifies a group of key quantitative trait loci for improvement of yield productivity in three wheat growing regions of Kazakhstan.

**Acknowledgements:** This work was supported by projects 0118PK01352 and 0118PK01308 in scientific and technical programs of Kazakhstan BR06249219 and BR06249329 (2018-2020 years), respectively.

## ПОИСК ИСТОЧНИКОВ УСТОЙЧИВОСТИ К Y-ВИРУСУ КАРТОФЕЛЯ СРЕДИ ОБРАЗЦОВ *SOLANUM CHACOENSE* В КОЛЛЕКЦИИ ВИР

Юркина Е.Н.<sup>1</sup>, Рогозина Е.В.<sup>1</sup>

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д.42-44  
[e.yurkina@vir.nw.ru](mailto:e.yurkina@vir.nw.ru)

Северо-Западный регион Нечерноземной зоны РФ благоприятен для получения высоких и стабильных урожаев картофеля. Его возделывание во многом определяется эффективностью защиты от вредителей и болезней. Особо актуальной проблемой является Y-вирус картофеля (YBK), который вызывает снижение урожая до 70%.

Были изучены 9 образцов *S. chacoense* Bitt. из коллекции ВИР (к-2732, к-3060, к-2861, к-7394, к-19769, к-21848, к-21849, к-21854, к-22638), каждый образец представлен 20 генотипами. Экспериментальная работа выполнена в условиях фитотрона ВИР в 2017 и 2018 г. В первый год изучались сеянцы, во второй год - клубневая репродукция, полученная от образцов первого года изучения. У сеянцев изучены фенологические и морфологические признаки, фиксировалась клубнеобразующая способность (количество клубней на растении). Клубневая репродукция второго года изучения была заражена смесью обычного и некротического штамма YBK методом механической инокуляции. Для заражения был применен метод растений-индикаторов. Индикатором и накопителем инфекции служил табак *Nicotiana tabacum* L. Инфектором служили носители обычного штамма Y-вируса, генотипы диких видов *S. huancabambense* Ochoa к-24915, *S. alandiae* Card. к-21240 и некротического штамма – генотипы *S. chacoense* Bitt к-21321, к-22687. После механической инокуляции соком растений инфекторов молодых листьев табака на 17 день появилась мозаика посветление жилок и некротизация листьев *N. tabacum*, что свидетельствовало о реакции заражения YBK. Испытуемые генотипы *S. chacoense* соком табака заражались дважды, с разницей в неделю. Через 10 дней после первого заражения проявились визуальные симптомы вирусной инфекции (задержка роста, морщинистая мозаика на листьях, деформация листовых долей, некротические поражения). ИФА растений *S. chacoense* проведенный через 3 недели после второго заражения выявил единичные растения с положительной реакцией YBK. Установлено несоответствие количества растений с визуальными симптомами вирусной инфекции и растений поражаемых YBK по данным ИФА. Окончательный вывод об устойчивости образцов *S. chacoense* и YBK будет сделан по результатам ИФА растений следующей клубневой репродукции. Клубнеобразование у растений после заражения YBK снизилось, по сравнению с клубнеобразованием сеянцев. Различие по количеству клубней на 1 растении у сеянцев 7,0 - 25,2 штук, а у растений первого клубневого поколения 4,6 - 19,7 штук.

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ФУЗАРИОЗУ КОЛОСА У СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ, СОЗДАННЫХ В НАЦИОНАЛЬНОМ ЦЕНТРЕ ЗЕРНА ИМ. П.П. ЛУКЬЯНЕНКО

Аблова И.Б., Тархов, А.С., Беспалова Л.А., Боровик А.Н.

ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко», Россия, г. Краснодар, 350012, п/о-12, Центральная  
усадьба КНИССХ

[ablova@mail.ru](mailto:ablova@mail.ru)

Фузариоз колоса (ФК) – широко распространенное вредоносное заболевание пшеницы во всем мире, в том числе и в России, особенно в основных зернопроизводящих регионах – ЮФО и СКФО. Эпифитотийное развитие фузариоза пшеницы на Северном Кавказе, в том числе в Краснодарском крае, за последние 40 лет наблюдали в 1988, 1992, 1993, 2016, 2017 гг. Для оптимизации фитосанитарного состояния особую значимость приобретает проблема насыщения агрофитоценозов фузариозоустойчивыми сортами.

Создание резистентных сортов осложняют широкая специализация грибов р. *Fusarium* - возбудителей болезни; узкая генетическая основа резистентности; множественность типов устойчивости и механизмов защиты растений и др. Устойчивость к ФК относительная, неспецифического типа – это полигенный признак, филогенетически нестабильный, сильно зависящий от условий среды и др.

Многолетний скрининг по внешне видимым признакам поражения колоса и зерна в условиях искусственного инфекционного фона *F. graminearum* позволил установить генетическую дивергенцию у сортов озимой пшеницы, дифференцировать их на кластеры согласно реакции на заражение. В настоящее время среди современного сортимента на долю устойчивых и умеренно устойчивых к ФК сортов приходится 30,7% от общего количества. Следует отметить, что степень поражения относительно устойчивых сортов варьирует по годам даже при искусственном заражении, в зависимости от погодной ситуации. Так, например, сорт Память – стандарт по резистентности к болезни, за 14 лет изучения на искусственном инфекционном фоне 2 раза находился в группе устойчивых, 9 – умеренно устойчивых, 2 - умеренно восприимчивых, 1 - восприимчивых. Умеренно устойчивый сорт Таня за такой же период изучения 1 раз был включен в кластер устойчивых, 6 – умеренно устойчивых, 5 – умеренно восприимчивых и 2 - восприимчивых.

Кроме традиционной визуальной и микологической оценки зараженности колоса и зерна фузариевыми грибами в лаборатории микологии и фитопатологии им. А.А. Ячевского ВИЗР определяли содержание ДНК грибов р. *Fusarium* и микотоксинов в зерне 17 сортов озимой пшеницы, созданных в НЦЗ им. П.П. Лукьяненко. Установлено, что среди исследованных сортов Адель является высоко устойчивым сортом как к заражению грибами р. *Fusarium*, так и к накоплению микотоксинов, образуемых этими патогенами [1]. В Краснодарском крае он ежегодно занимает 60-110 тыс. га, широко возделывается в Ставропольском крае, республиках Северного Кавказа.

Литература

[1]. Гагкаева Т.Ю., Орина А.С., Гаврилова О.П., Аблова И.Б., Беспалова Л.А. Характеристика сортов озимой пшеницы по устойчивости к фузариозу зерна // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т. 22. – № 6. – С.685-692.

## ASSESSMENT OF THE PHENOTYPIC AND GENETIC DIVERSITY OF DURUM WHEAT COLLECTION (TRITICUM DURUM DESF.)

Anuarbek S.<sup>1,2</sup>, Abugalieva S.<sup>1,2</sup>, Tuberosa R.<sup>3</sup>, Turuspekov Y.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

<sup>2</sup> Institute of Plant Biology and Biotechnology, Almaty, Kazakhstan

<sup>3</sup> University of Bologna, Bologna, Italy

[absaule@yahoo.com](mailto:absaule@yahoo.com)

Durum wheat (*Triticum durum* Desf.) is an important crop both in the world and in Kazakhstan. Durum wheat is used as a valuable raw material in bakery and pasta production. Success in breeding projects for improvement of the durum wheat is largely depend on usage of germplasm with a wide genetic background. To meet this requirement a collection of durum wheat consisting from 350 accessions from Kazakhstan and Europe was developed based on collaboration with the University of Bologna, Italy. The collection was successfully tested in two distant environments – South-east and North of Kazakhstan. Morphological variation of the collection was recorded by using 10 agronomic traits, including flowering time, seed maturation time, plant height, number of kernels per plant, thousand kernels weight, and yield per square meters. The data is under processing for genome-wide association study by using 16K SNP genotyping data from Illumina array.

Effective breeding strategies require knowledge of the genetic diversity level of cultivars. Therefore, in a separate study, polymorphism of the twenty-nine local durum cultivars was analyzed using 7 microsatellite markers. The total number of alleles was 20 and the effective allele number was an average of 2.8. The average polymorphic information content (PIC) value was 0.3658 and ranged from 0.1267 in Xgwm219 to 0.5457 in Xgwm247. The genetic diversity indices of Shannon and Nei were equal to 0.7174, 0.4243, respectively. The level of genetic diversity was relatively high. The genetic distance between cultivars was calculated. Also, with the help of microsatellite markers, a cluster analysis of the studied cultivars was conducted. The results of the study make it possible to assess the level of genetic polymorphism in the studied cultivars and indicate that the used markers are informative. Polymorphic markers were selected for the following studies on the durum genetic diversity. The obtained information will be used in breeding programs aimed at increasing yield and adaptability of durum wheat.

**Acknowledgements:** This work was supported by project AP05131328 granted by the Ministry of Education and Sciences of the Republic of Kazakhstan.

## СЕЛЕКЦИЯ ТРИТИКАЛЕ СФЕРОКОККУМ (TRITICALE SPHAEROCOSSUM) ХЛЕБОПЕКАРНОГО НАПРАВЛЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Боровик А.Н., Беспалова Л.А., Мирошниченко Т.Ю.

ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко», Россия, г. Краснодар, 350012 Центральная усадьба КНИИСХ

[alex-borovik@mail.ru](mailto:alex-borovik@mail.ru)

Путём скрещивания сорта озимой гексаплоидной тритикале Валентин 90, обладающего высоким уровнем адаптивности и хорошими хлебопекарными качествами с сортом озимой шарозёрной пшеницы Шарада (T. sphaerocossum) нашей селекции удалось перенести ген «s» сферококкоидности в культуру тритикале [1]. Привнесение признака сферококкоидности открыло новые возможности в улучшении показателей качества зерна тритикале (за счёт увеличения содержания белка и клейковины), а также в интенсификации габитуса растения этой культуры (за счёт упрочнения соломины и повышения устойчивости к полеганию) [2]. На сегодняшний день создано 2 сорта тритикале сферококкум – Тит и Гирей. Они обладают высокой зимостойкостью, приспособлены к внесению больших доз удобрений и характеризуются отличными хлебопекарными качествами. Потенциал продуктивности 12 т/га, объёмный выход хлеба из 100 гр. муки без применения улучшителей 850-900 см<sup>3</sup>, общая оценка хлеба до 4,7 балла. Сорт Тит районирован с 2015 года по Центральному и Северо-Кавказскому регионам РФ, сорт Гирей проходит государственное сортоиспытание [3]. Считаем селекцию тритикале сферококкум важным и перспективным направлением.

- 1). Беспалова, Л.А. Использование гена сферококкоидности в создании зернового тритикале / Л.А. Беспалова, А.Н. Боровик, О.Ю. Пузырная, Г.И. Букреева // Тритикале. Материалы междунауч.- практ. конф. «Тритикале и его роль в условиях нарастания аридности климата» и секции тритикале отделения растениеводства РАСХН. – Ростов-на-Дону. – 2012. – С. 21-25.
- 2). Боровик, А.Н. Шарозёрная тритикале – новая зерновая культура для возделывания по предшественнику подсолнечник / А.Н. Боровик, Т.Ю. Мирошниченко // Масличные культуры. Науч.- тех. бюлл. ВНИИМК. – Вып. 2 (159-160). – 2014. – С. 139-144.
- 3). Боровик, А.Н. Сорт Гирей – новый шаг в селекции тритикале сферококкум / А.Н. Боровик, Л.А. Беспалова, Т.Ю. Мирошниченко // Тритикале : матер. 8-й Междунар. науч.- практ. конф. «Тритикале и стабилизация производства зерна, кормов и продуктов их переработки» (Ростов-на-Дону, 07 июня 2018 г.). – Ростов-на-Дону : Юг, 2018. – С. 22-26.

## ВЫБОР ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ДЛЯ МУТАЦИЙ БЕЗАНТОЦИАНОВОСТИ У РЖИ НА ОСНОВЕ СРАВНИТЕЛЬНОГО КАРТИРОВАНИЯ

Войлоков А.В.<sup>1</sup>, Цветкова Н.В.<sup>2</sup>, Хакауф Б.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Москва, 119991, ГСП-1, ул. Губкина, д. 3, <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7-9, <sup>3</sup>Julius Kühn-Institut, Institute for Breeding Research on Agricultural Crops, Germany, Sanitz, D-18190, Rudolf-Schick-Platz 3a  
[av\\_voylokov@mail.ru](mailto:av_voylokov@mail.ru)

На основании сцепления с молекулярными маркерами экспрессирующихся последовательностей ржи, картированы пять генов, контролирующих антоциановую окраску растения (*vi1*, *vi2*, *vi3*, *vi4/vi5*, *vi6*). Ген *vi1* коосегрегирует с *tcos1903* и тесно сцеплен с фланговыми маркерами *tcos1879* и *tcos1892* в хромосоме 7R. У пшеницы эти маркеры локализованы также в хромосомах седьмой гомеологической группы. Ранее ген *vi1* был картирован на расстоянии 27% от микросателлитного маркера *Xgwm1302*, локализованного у пшеницы в хромосомах 4В и 4D. Это позволяет предположить, что ген *vi1* локализован в хромосоме 7R на границе эволюционной транслокации между хромосомами седьмой и четвертой гомеологических групп, и является ортологом генов транскрипционных факторов R2R3 MYB пшеницы, локализованных в синтенных участках хромосом. Ген *vi2* сцеплен с тремя маркерами *TC80147*, *AK373477* и *AK248154*, он занимает дистальное положение относительно последнего маркера в 4RL. Эти маркеры локализованы у ячменя в хромосоме 6H, а у пшеницы в 6A, 6B и 6D, что соответствует данным о дистальном участке хромосомы 4RL как фрагменте предковой хромосомы шестой гомеологической группы. В ортологических фрагментах этих хромосом у ржи, ячменя и пшеницы локализован ген антоцианидинсинтазы. Ген *vi3* входит в группу сцепления из трёх маркеров хромосомы 3R, располагаясь между двумя из них *FJ394356/1* и *TC2751g*. Взаимное расположение маркеров *FJ394356/1*, *TC2751g* и последовательности гена дигидрофлавонол 3-гидроксилазы на карте хромосомы 3R соответствует предположению о структурном гене *Dfr*, как гене-кандидате для мутации *vi3*. Ген *vi4* расположен в хромосоме 2R между двумя маркерами *tcos342* и *tcos5085*. Положение этого гена на карте практически совпадает с положением контига, близкого по последовательности MYC-генам ячменя, пшеницы и кукурузы. Нами ранее в этом участке хромосомы был локализован ген *Vs*, отвечающий за биосинтез антоцианов в перикарпе. Это позволяет рассматривать ген, включающий последовательность контига, кодирующего транскрипционный фактор bHLH(MYC), в качестве гена - кандидата как для *vi4*, так и для *Vs*, что делает необходимым проверку их аллелизма. Ген *vi6* расположен на хромосоме 2R дистальнее маркера *tcos5085* и тесно (1,9%) сцеплен с другим фланговым маркером *tcos485*. В этом участке хромосомы картирован структурный ген флаванон 3-гидроксилазы *ScF3h*. Наиболее вероятно, что мутация именно в этом гене ведёт к безантоциановости у ржи, и он может рассматриваться в качестве гена - кандидата для *vi6*.

**Благодарность:** Данная работа была выполнена при поддержке госзадания на тему «Генетика и селекция ржи на основе наследственного природного разнообразия»

## ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ФОРМИРОВАНИЯ УРОЖАЯ ЧЕРЕШНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ МНОГОМЕРНОЙ СТАТИСТИКИ

Каньшина М.В., Мисникова Н.В., Астахов А.А.

Всероссийский научно-исследовательский институт люпина – филиал ФГБНУ «ФНЦ ВИК им. В.Р. Вильямса», Россия, Брянск, пос. Мичуринский, ул. Березовая, 2

[lupin\\_mail@mail.ru](mailto:lupin_mail@mail.ru)

Изучение морфо-биологических особенностей роста и плодоношения черешни в новых почвенно-климатических условиях является неотъемлемой частью селекционного процесса. Оценивали 23 сортообразца по 9 хозяйственно-ценным признакам, достаточно полно характеризующих формирование урожайности.

Статистическая обработка данных выполнена с применением дисперсионного, корреляционного, и многомерного анализов при использовании пакета *Statistica for Windows* 6.0.

Из исходной матрицы экспериментальных данных установлено, что из 36 парных корреляций ( $r$ ) только 7 имели статистически достоверные значения: количество однолетних побегов – средняя длина однолетних побегов (-0,49); средняя длина однолетних побегов – количество букетных веточек (0,73); количество однолетних побегов – количество плодовых почек на однолетних побегах (0,77), средняя длина однолетних побегов – ширина кроны (0,74); количество букетных веточек – ширина кроны (0,59); средняя длина однолетних побегов – окружность штамба (0,42); ширина кроны – окружность штамба (0,54).

Для выявления общих закономерностей и силы связи между признаками дальнейшие исследования проводили методом факторного анализа.

На основе факторных нагрузок выявлено 4 фактора для оценки генотипов:

фактор 1 (49,7% изменчивости) – средняя длина однолетних побегов и количество букетных веточек;

фактор 2 (25,8% изменчивости) – количество плодовых почек на однолетних побегах и средняя длина однолетних побегов;

фактор 3 (19,9% изменчивости) – количество цветков в почке и окружность штамба;

фактор 4 (4,6% изменчивости) – количество плодовых почек на букетных веточках.

Метод факторного анализа показал, что сортообразцы черешни имеют три типа плодоношения: на букетных веточках, однолетних побегах и смешанный тип.

Сортообразцы Тютчевка, Ревна, Розовый закат, 2-3-45, 2-3-67 плодоносят в основном на букетных веточках, где располагается 78-87% цветковых почек. Сортообразцы Теремощка, Одринка, 1-9-52, 2-6-32, 2-5-21 и 2-3-35 плодоносят в основном на однолетних побегах, где сосредоточено 76-85% цветковых почек. Оставшиеся сортообразцы имеют смешанный тип плодоношения, они плодоносят и на букетных веточках, и на однолетнем приросте.

За 7 лет плодоношения средняя урожайность испытываемых сортообразцов колебалась от 2,3 до 9,1 кг/дер., достоверных различий по урожайности между группами не выявлено.

Результаты проведенного ранее кластерного анализа о гипотезе различного плодоношения черешни были подтверждены и данными факторного анализа.

## ДОМСТИКАЦИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ ПЕРСПЕКТИВНЫХ КАУЧУКОНОСОВ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Кулуев Б.Р.<sup>1</sup>, Князев А.В.<sup>1</sup>, Фатерыга А.В.<sup>2</sup>, Мулдашев А.А.<sup>1</sup>, Чемерис А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Россия, Уфа, Проспект Октября, 71; <sup>2</sup>Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН, Россия, Феодосия, пгт Курортное, ул. Науки, 24

[kuluev@bk.ru](mailto:kuluev@bk.ru)

Натуральный каучук на сегодняшний день является незаменимым сырьем, прежде всего для шинной промышленности, где его доля в составе смеси для легковой покрышки составляет до 50%, для грузовой до 85%, а для авиационных шин до 100%. Достоинство натурального каучука, в отличие от синтетического - его высокая износостойкость и способность выдерживать серьезные вертикальные нагрузки. На сегодняшний день основным источником натурального каучука в мире является лишь один вид растения - гевея бразильская (*Hevea brasiliensis*). Однако с начала 20 века эти деревья стали поражаться весьма опасным фитопатогеном *Microcyclus ulei*. В связи с этим становится актуальным поиск растений-каучуконосов, относящихся к другим видам. Для умеренной зоны таким признанным источником качественного каучука является одуванчик кок-сагыз (*Taraxacum kok-saghyz* Rodin). На Южном побережье Крыма также произрастает другой каучуконосный одуванчик – крым-сагыз (*Taraxacum hybernum* Steven). В течение двух летних сезонов 2017-2018 гг. мы проводили работы по выращиванию и селекции этих двух видов одуванчиков в полевых условиях и получили формы кок-сагыза и крым-сагыза с содержанием каучука в среднем 14% и 6% на сухую массу корня соответственно. Также ведется селекция по массе и габитусу корня. В природных популяциях одуванчиков нам удалось обнаружить розовосемянную форму крым-сагыза, которая характеризуется увеличенной массой корней и повышенной семенной продуктивностью. Были проведены работы по гидропонному выращиванию кок-сагыза и крым-сагыза, которые при таком трехмесячном выращивании накапливали до 5% каучука. Методом агробактериальной трансформации получены волосовидные корни (hairy roots) кок-сагыза и крым-сагыза, которые в течение одного месяца культивирования накапливали до 7% каучука на сухую массу. Кок-сагыз и крым-сагыз относительно средней полосы России являются южными растениями и по нашим данным накапливают каучук в Республике Башкортостан меньше, чем в естественных местообитаниях. Мы предположили, что перспективными каучуконосными культурами для нашей природной зоны могут оказаться представители местной флоры. Поэтому нами был проведен скрининг более 40 видов наиболее перспективных каучуконосов местной флоры на содержание каучука. Наибольшее содержание каучука было показано в корнях для *Euphorbia helioscopia* (9,3%), в стеблях для *Euphorbia palustris* (6%), в листьях для *Picris hieracioides* (9%). Ведутся работы по анализу качества натурального каучука этих трех диких видов растений.

## ПОИСК НОВЫХ ИСТОЧНИКОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ЛИСТОСТЕБЕЛЬНЫМ ИНФЕКЦИЯМ В КОЛЛЕКЦИИ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*T. AESTIVUM* L.) С ГЕНЕТИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛОМ ТРИБЫ TRITICEAE

Леонова И.Н.<sup>1</sup>, Орлова Е.А.<sup>1</sup>, Сколотнева Е.С.<sup>1</sup>, Орловская О.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, проспект академика Лаврентьева, 10, 630090; <sup>2</sup>ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Республика Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27, 220072

[leonova@bionet.nsc.ru](mailto:leonova@bionet.nsc.ru)

Расширение генетического разнообразия мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) по генам устойчивости к заболеваниям и создание новых адаптивных сортов является одной из актуальных проблем селекции. Значительный вредоносный эффект на данную культуру оказывают грибные патогены, которые при благоприятных условиях могут вызывать потери урожая пшеницы до 50%. Целью данной работы является поиск генетических локусов, детерминирующих устойчивость мягкой пшеницы к листовостебельным пятнистостям: септориозу (возбудитель *Stagonospora nodorum* Verc.) и пиренофорозу (*Pyrenophora tritici-repentis*). В работе была использована коллекция линий, содержащих генетический материал, перенесенный в геном мягкой пшеницы от родственных видов *T. durum*, *T. dicoccum*, *T. dicoccoides*, *T. timopheevii* и *T. kiharae*. Коллекция была оценена по восприимчивости к патогенам в условиях естественного инфекционного фона западносибирского региона России и Республики Беларусь. Погодные условия 2018 года в обоих регионах не способствовали максимальному проявлению заболеваний. Поражение септориозом восприимчивых сортов-стандартов составило 30%, поражение желтой пятнистостью было от умеренного до слабого. Отмечены значительные различия по восприимчивости линий к полевым популяциям патогенов, специфичных для Республики Беларусь и Западной Сибири. Среднеустойчивый уровень поражения к септориозу в условиях западносибирского региона был отмечен для 22 образцов, что составило 45% от изученных. Тогда как в условиях Республики Беларусь, высокая восприимчивость к *Stagonospora nodorum* была характерна только для 7 линий из 49. Степень поражения линий к пиренофорозу существенно зависела от комбинаций скрещивания: большинство линии, полученные с участием *T. timopheevii* и *T. kiharae*, имели низкую степень поражения (5% по шкале иммунности) по сравнению с линиями, полученными на основе *T. durum* и *T. dicoccum* (40%). Проведен поиск ассоциаций маркер-признак для устойчивости к септориозу и пиренофорозу на основании результатов генотипирования маркерами SNP (Illumina Infinium 20K array). Локусы, с высокой вероятностью ассоциированные с устойчивостью к пиренофорозу, были выявлены в хромосомах 1A, 2A, 2B, 6A и 7A. Для устойчивости к септориозу было выявлено 5 локусов в хромосомах 2B, 4B, 6A, 6B и 7A, при этом локусы в хромосомах 6A и 7A специфичны для популяции септориоза западносибирского региона России.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ (проект №18-516-00001) и БРФИ (проект №Б18-Р-028)

## ЗАМЕЩЕНИЕ ЦИТОПЛАЗМЫ – СТРАТЕГИЯ К УВЕЛИЧЕНИЮ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Першина Л.А.<sup>1</sup>, Трубачеева Н.В.<sup>1</sup>, Осадчая Т.С.<sup>1</sup>, Белова Л.И.<sup>1</sup>, Кравцова Л.А.<sup>1</sup>, Белан И.А.<sup>2</sup>, Россеева Л.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск, 630090, пр-т Академика Лаврентьева 10;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Омский аграрный научный центр", Россия, Омск, 644012, пр-т Королева, 26

[pershina@bionet.nsc.ru](mailto:pershina@bionet.nsc.ru)

Важной задачей генетики и селекции является увеличение генетического разнообразия возделываемых видов пшеницы. Пшеница относится к сложным генетическим объектам, в работе с которыми применение методов, направленных на прямую модификацию геномов, ограничено. В наших исследованиях разрабатываются подходы, ориентированные на создание генотипов мягкой пшеницы с новыми межгеномными взаимодействиями за счет замещения цитоплазмы на чужеродную и получение на основе таких генотипов гомозиготных линий с фиксированным сочетанием комплекса генов разного происхождения, ответственных за устойчивость к грибным патогенам. Разработан и используется комплекс методов, направленных на восстановление фертильности и преодоление ядерно-цитоплазматического конфликта при скрещиваниях между отдельными видами ячменя и мягкой пшеницей, а также при последующей реконструкции ядерных геномов в результате интеграции чужеродного генетического материала в ядерный геном аллоплазматических линий (*H.vulgare*)-*T.aestivum* и (*H.marinum* ssp. *gussoneanum*)-*T.aestivum*. На основе культивирования пыльников оптимизированы методы получения аллоплазматических интрогрессивных гаплоидных линий с удвоенным числом хромосом (ДГ-линий). Выявлены механизмы ядерно-цитоплазматической коадаптации при формировании аллоплазматических линий (*Hordeum*)-*T.aestivum* в зависимости от видовой принадлежности ячменя. Разработаны протоколы лабораторного и полевого предселекционного тестирования, включающего отбор цитогенетически стабильных гексаплоидных генотипов; проведение молекулярного анализа для подтверждения наличия целевых генов; проверку ДГ-линий на устойчивость к биотическим стрессам в разных экологических условиях. Аллоплазматические ДГ-линии, полученные с привлечением разнообразия гибридных генотипов, используются в селекционном процессе для получения новых сортов яровой мягкой пшеницы [1, 2]. Обсуждаются как возможности, так и ограничения широкого использования разрабатываемого подхода для создания новых генотипов мягкой пшеницы и ускорения селекционного процесса.

[1]. Белан И.А., Россеева Л.П., Мешкова Л.В., Блохина Н.П., Першина Л.А., Трубачеева Н.В. Создание сортов мягкой пшеницы, устойчивых к грибным заболеваниям для условий Западной Сибири и Урала. // 2017, Вестник Алтайского государственного аграрного университета, № 1 (147), С.5-7.

[2]. Першина Л.А., Белова Л.И., Трубачеева Н.В., Осадчая Т.С., Шумный В.К., Белан И.А., Россеева Л.П., Немченко В.В., Абакумов С.Н. Аллоплазматические рекомбинантные линии (*H. vulgare*)-*T. aestivum* с транслокацией 1RS.1BL: исходные генотипы для создания сортов яровой мягкой пшеницы. // 2018, Вавиловский журнал генетики и селекции, Т. 22, С.544-552. Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ (17-04-01738).

## ГОМОЛОГИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ БОЛЕЗНЕЙ У ДИКОРАСТУЩИХ И КУЛЬТУРНЫХ ФОРМ КАРТОФЕЛЯ

Рогозина Е.В.<sup>1</sup>, Бекетова М.П.<sup>2</sup>, Фадина О.А.<sup>2</sup>, Кузнецова М.А.<sup>3</sup>, Хавкин Э.Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР);

Россия, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42-44,

<sup>2</sup>Всероссийский институт сельскохозяйственной биотехнологии,  
Россия 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 42;

<sup>3</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии,

Россия, 143050, Одинцовский р-н, Московская обл., р.п. Большие Вяземы, ул. Институт, 5-а.  
[erogozina@vir.nw.ru](mailto:erogozina@vir.nw.ru)

Для картофеля - культуры, во многом определяющей продовольственную безопасность нашей страны, исследование локусов, ассоциированных с устойчивостью к вредным организмам, способствует совершенствованию селекционной работы и выработке стратегии рационального использования генофонда. Молекулярный скрининг генов устойчивости к фитофторозу и генов иммунитета к Y-вирусу картофеля (YVK) проведен на материале из коллекции ВИР. Поиск и анализ генов/локусов устойчивости картофеля и его дикорастущих сородичей к возбудителям двух экономически важных болезней выполняется с использованием высокоспецифичных ДНК-маркеров и сопряжен с фентипированием растений с помощью фитопатологических методов. Исследованы более 250 образцов 21 вида *Solanum* L., сорта зарубежной и отечественной селекции, аборигенные формы и межвидовые гибриды картофеля. SCAR (sequence characterized amplified region) маркеры генов устойчивости к *Phytophthora infestans* (*Rpi* генов), охарактеризованных у небольшого числа видов *Solanum* (генов-прототипов), обнаружены у многих других видов *Solanum*, в том числе филогенетически отдаленных, представителей разных серий, из северо- и южноамериканского центров происхождения. У сложных межвидовых гибридов с высокими агрономическими качествами найдены гомологи нескольких генов устойчивости к фитофторозу, которые являются аллеломорфами генов-прототипов из *S. bulbocastanum* и *S. demissum* [1, 2]. Пирамидирование *Rpi* генов (увеличение числа маркеров в одном растении), особенно *Rpi* генов широкой специфичности по отношению к патотипам *P. infestans*, повышает устойчивость гибридных клонов к фитофторозу.

Маркеры, фланкирующие гены иммунитета к YVK *Ry<sub>sto</sub>* и *Ry<sub>adg</sub>*, были валидированы путем анализа сортов картофеля, исследованных создателями этих маркеров, а затем использованы для скрининга девяти дикорастущих видов *Solanum*. Только у *S. stoloniferum* и близкородственных ему видов *S. papita* и *S. polytrichon* присутствие маркеров генов *Ry<sub>sto</sub>* и *Ry<sub>adg</sub>* согласовалось с устойчивостью к YVK [3].

**Благодарности:** Работа поддержана грантом РФФИ № 18-016-00138.

[1] Beketova M., Sokolova E., Rogozina E., Kuznetsova M., Khavkin E. Two orthologs of late blight resistance gene *RI* in wild and cultivated potato//2017. Russian Journal of Plant Physiology. 64(5): 718-727.

[2] Khavkin E., Kuznetsova M., Rogozina E., Deahl K., Jones R. Molecular analysis of wild *Solanum* clones in search for late blight resistance//2013. Proc. 8th Intern. Symp. Agr., Dubrovnik, Croatia, P. 264-268.

[3] Бекетова М., Рогозина Е., Чалая Н., Хавкин Э. Маркеры генов экстремальной устойчивости к Y вирусу картофеля у дикорастущих видов секции *Petota* рода *Solanum* L.//2018. Вестник Московского ГОУ (4).

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ РОДА *POPULUS L.* В ЦЕНТРАЛЬНОМ ЧЕРНОЗЕМЬЕ

Царев А.П.

*Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии, Россия, Воронеж, ул. Ломоносова, 105*  
[antsa-55@yandex.ru](mailto:antsa-55@yandex.ru)

В нашей стране системный научный подход и наибольший практический вклад при создании коллекций продуктивных и устойчивых сельскохозяйственных растений осуществил Н.И. Вавилов. В лесном хозяйстве также апробировались эти направления исследований.

Поскольку древесным растениям свойственен длительный период онтогенеза, то не всегда отобранные на быстроту роста и устойчивость в ювенильном возрасте растения оказывались таковыми же и в течение следующих возрастных этапов. Результаты, полученные на первых этапах онтогенеза, необходимо проверять в многолетних полевых испытаниях. Первым этапом таких испытаний является создание коллекций *ex situ*.

Как и во многих зарубежных странах, внимание привлекалось в первую очередь к быстрорастущим и высокопродуктивным древесным породам. Одной из таких пород является Тополь.

В Центральном Черноземье пионером таких работ был профессор М.М. Вересин. Им лично и под его руководством создано семь довольно представительных полевых опытных объектов тополей. В коллекциях и сортоиспытательных участках было собрано 52 клона от разных видов и гибридов собственно его селекции и полученным им от других селекционеров.

Дальнейшие исследования проводились творческой группой Центрального НИИ лесной генетики и селекции (в настоящее время ВНИИЛГИСбиотех) под руководством А. П. Царева. С 1972 г. группой создана коллекция из 300 форм, клонов и сортов тополей, полученных из более чем 30 мест СССР. Первоначально интродуцированный материал был размножен в коллекционно-маточной плантации на площади 1,5 га, где было проведено первичное сортоизучение. Затем тополя испытывались и размножались в различных регионах страны: областях ЦЧР (Воронежской, Липецкой, Тамбовской), Волгоградской, Астраханской, Донецкой и др. С маточных плантаций Семилукского питомника, Астраханской ЛОС и др. производству было передано более 5 млн. стеблевых черенков перспективных сортов тополей.

Продуктивность лучших тополей, испытанных на Семилукском популетуме Центрального Черноземья, в возрасте 25 лет достигала от 500 до 1000 м<sup>3</sup>/га. В результате испытаний были разработаны перспективные ассортименты тополей для внедрения их в производство и подобраны анцесторы для выведения новых сортов этого рода.

## ЮВЕНИЛИЗАЦИЯ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ГЕНОТИПОВ ТОПОЛЕЙ И ИХ РЕПРОДУКТИВНАЯ СПОСОБНОСТЬ В ЦЧР

Царев В.А.

ФГБУ “Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Лесной Генетики, Селекции и Биотехнологии”, Россия, 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 105

[vad.tsareff@yandex.ru](mailto:vad.tsareff@yandex.ru)

Многолетнее сортоиспытание различных видов, гибридов, клонов и сортов тополей, проводимое в условиях степной и лесостепной зон позволило выявить наиболее перспективные в хозяйственном отношении генотипы тополей, отличающиеся быстрым ростом, устойчивостью и высокой продуктивностью. Но к настоящему времени большинство из них значительно переросли возраст технической спелости, начинают усыхать и разрушаться, что актуализировало проблему их репродукции. Ее решение возможно или путем микроклонального размножения *in vitro*, или путем предварительной ювенилизации с последующим созданием коллекционно-маточной плантации, которая позволит проводить репродукцию генетически-ценного посадочного материала *in vivo*. Последний значительно проще и дешевле.

Для этого на базе ВНИИЛГИСбиотех создано ювенилизационное отделение, на котором проводится омоложение различных форм тополей. В 2016 г. из омоложенного посадочного материала создана коллекционно-маточная плантация (КМП), насчитывающая более 30 форм тополей с размещением 0,5×0,3 м. В 2-х летнем возрасте максимальный выход стандартных черенков на КМП в пересчете на 1 гектар наблюдался у евро-американских спонтанных гибридов черных тополей – до 53,3 тыс. шт./га (т. ‘Бахельери’). В секции бальзамических тополей максимальную репродуктивную способность продемонстрировал т. волосистоплодный – 40 тыс. шт./га. Хорошая репродуктивная способность наблюдалась также и у новых сортов белых тополей – ‘Болид’ и ‘Ведуга’ – 30-38 тыс. шт./га (оригинатор А. П. Царев). Среди межсекционных гибридов наилучшие репродуктивные показатели отмечены у т. ‘Э.с.-38’ селекции М. М. Вересина (44,7 тыс. шт./га) и у т. ‘Версия’ селекции А. П. Царева (33,3 тыс. шт./га).

Для последующего размножения хозяйственно-ценных генотипов тополей в промышленных масштабах необходимо создавать маточные плантации с оптимальным размещением 3,0×0,5 м. Более ранние исследования, проведенные в лесостепной зоне Воронежской области и в степной зоне Волгоградской области показали, что максимальный выход стеблевых черенков тополя на 4-6 летних плантациях (в среднем более 300 тыс. шт./га) наблюдался у евро-американских гибридов черных тополей. Из представителей других секций большой экологической стабильностью и высокой репродуктивностью отличался межсекционный гибрид М. М. Вересина ‘Э.с.-38’ с выходом стандартных черенков в условиях сухой степи на 4-летней маточной плантации до 580 тыс. шт./га.

## ОПТИМИЗАЦИЯ ГАПЛОИДНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ ТРИТИКАЛЕ

Акинина В.Н.<sup>1</sup>, Хомякова О.В.<sup>1</sup>, Дьячук Т.И.<sup>1</sup>, Поминов А.В.<sup>1</sup>, Кибкало И.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока», Россия, Саратов, ул. Тулайкова, д.7.

[akinina\\_victoria@mail.ru](mailto:akinina_victoria@mail.ru)

Среди различных биотехнологий, основанных на культивировании клеток и тканей растений *in vitro*, в селекционной практике наиболее востребованы гаплоидные. С их использованием в мире создано около 300 сортов экономически значимых сельскохозяйственных культур, 150 из которых принадлежат представителям семейства *Poaceae*, и их число постоянно увеличивается. Большинство полученных сортов принадлежат пшенице, рису и ячменю. Гаплоидия менее востребована в селекционных программах тритикале, прежде всего, из-за высокой частоты формирования нежизнеспособных альбиносных растений.

Оптимизация гаплоидной биотехнологии может проводиться с использованием различных приемов – изменением условий выращивания донорных растений, воздействий стрессами на начальные этапы культивирования пыльников, изменением состава питательных сред. Выявлено и цитологически доказано, что предобработка колосьев донорных растений пониженными положительными температурами не является триггером спорофитного развития микроспор – оно происходит и в пыльников колосьев, не подвергавшихся действию этого стресса. Очевидно, само удаление колосьев с донорного растения является стрессом, который в сочетании с условиями культивирования пыльников *in vitro* без других воздействий может вызывать репрессию гаметофитных генов и переключение программы на спорофитный путь развития.

Показана эффективность замены сахарозы на мальтозу в составе индукционных питательных сред, что привело к увеличению частоты регенерации зеленых растений у этого вида. Изучение влияния азотнокислого серебра на основные параметры гаплопродукции выявило его положительный эффект на выход новообразований и регенерацию зеленых растений в концентрации 5-10 мг/л. При явно выраженной генотипической зависимости влияния AgNO<sub>3</sub> на основные этапы андрогенеза *in vitro*, не обнаружено его негативного влияния ни у одного из изученных генотипов.

Для сохранения стерильных гаплоидных растений разработан метод микрклонального размножения, включающий культивирование незрелых колосьев *in vitro*. Культивирование сегментов колосьев на 5-6 этапе органогенеза позволяет снижать генотипическую зависимость формирования эмбрионного каллуса и регенерации растений. Это позволяет получать достаточное число клонов одного генотипа для удвоения числа хромосом и сохранения уникальных генотипов. Оптимизированная гаплоидная биотехнология является эффективной для ее использования в селекции тритикале.

## ЛОКАЛИЗАЦИЯ И СОСТАВ АНТОЦИАНОВ В ЗЕРНОВКАХ РЖИ С РАЗНОЙ ОКРАСКОЙ

Андреева Е.А.<sup>1,2</sup>, Зыкин П.А.<sup>2</sup>, Лыхолай А.Н.<sup>2</sup>, Войлоков А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук. Россия, г. Москва, 119991, ГСП-1, ул. Губкина, д. 3.

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет. Россия, г. Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., д.7/9

[elena.alex.andreeva@gmail.com](mailto:elena.alex.andreeva@gmail.com)

В растениях синтезируется огромное количество вторичных метаболитов, в частности, флавоноидов. К этой группе принадлежат пигменты антоцианы и проантоцианидины. В Петергофской генетической коллекции ржи сохранены линии с разнообразной окраской тканей и органов, в частности, зерновок (жёлтое, зелёное, коричневое и фиолетовое зерно). За тканеспецифический биосинтез отвечают доминантные гены фиолетовой окраски перикарпа (*Vs*) и зелёной окраски (*C*) алейрона. В составе коллекции идентифицированы безантоциановые линии, несущие мутации в пяти неаллельных генах (*vi1*, *vi2*, *vi3*, *vi4*, *vi6*) и не имеющие антоциановой окраски зерна и вегетативных органов. Комбинация двух из этих генов (*vi1* и *vi2*) с *Vs* ведёт к появлению коричневой окраски зерна.

Методами хроматографии и масс-спектрометрии у 24 образцов ржи с разной окраской зерна проанализирован состав антоцианов в зерновках. У форм с жёлтым и коричневым зерном антоцианы не обнаружены. У форм с зелёным зерном выявлены рутинозиды дельфинидина и цианидина. Образцы с фиолетовым зерном обладают наиболее богатым спектром антоцианов: выявлены цианидин и его метилированное производное пеонидин (преобладающие), а также, мальвидин и пеларгонидин. Несмотря на одинаковую окраску, фиолетовозёрные образцы различаются по соотношению основных антоцианов и спектру ацилированных производных. Распределение антоцианов и проантоцианидинов в зерновках показано гистологическими методами, в том числе, MALDI-визуализацией. У всех исследованных форм ржи с различным цветом зерновок теста окрашена в коричневый цвет различной интенсивности, качественная реакция с ванилином и DMACA выявила наличие проантоцианидинов в тесте, но их распределение и интенсивность накопления варьирует.

В вегетативных органах — соломе взрослых растений, колеоптиле и первом листе проростков, в качестве основного антоциана выявлен рутинозид цианидина.

Рутинозид цианидина по литературным данным является наиболее стабильным антоцианом, обладает антиокислительными свойствами, *in vitro* показана его эффективность в защите ДНК от повреждений УФ. Многочисленные исследования подтверждают защитное действие антоцианов ржи от сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, ожирения, а также, их антимуtagenный и противоопухолевый эффекты. Полученные нами данные по составу и распределению антоцианов позволяют понять генетический контроль синтеза антоцианов и выявить конкретные мутации, определяющие состав антоцианов у форм коллекции.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ №16-04-00411, №19-016-00205 и в рамках темы «Генетика и селекция ржи на основе наследственного природного разнообразия».

## НАПРАВЛЕНИЯ СЕЛЕКЦИИ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ДЛЯ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Белан И.А.<sup>1</sup>, Россеева Л.П.<sup>1</sup>, Блохина Н.П.<sup>1</sup>, Немченко В.В.<sup>2</sup>, Абакумов С.Н.<sup>3</sup>, Кадиков Р.К.<sup>4</sup>, Трубачеева Н.В.<sup>5</sup>, Осадчая Т.С.<sup>5</sup>, Першина Л.А.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Омский аграрный научный центр", Россия, Омск, 644012, пр-т Королева, 26;

<sup>2</sup>ООО «Агрокомплекс Кургансемена», Россия, Курган, 640000, ул.Володарского, 57;

<sup>3</sup>ФГУП «Ишимское» Россия, Тоболово, 627704, ул. Мира, 7/2;

<sup>4</sup>ООО «Агротехстрой», Россия, 450009, Уфа, Владивостоцкая, 3а, офис 310;

<sup>5</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск, 630090, пр-т Академика Лаврентьева 10;  
[belan\\_skg@mail.ru](mailto:belan_skg@mail.ru)

Западная Сибирь – один из ведущих регионов РФ по производству высококачественного зерна пшеницы. В связи с глобальными изменениями и слабой прогнозируемостью погодных условий, появлением новых и сильным распространением имеющихся возбудителей заболеваний стоит задача разработки новых подходов к ускорению селекционного процесса. Задачей наших исследований является создание и внедрение в производство экологически пластичных коммерческих сортов яровой мягкой пшеницы разных групп спелости, сочетающих высокую продуктивность, устойчивость к засухе и болезням. К настоящему времени в лаборатории селекции яровой мягкой пшеницы ФГБНУ «Омский АНЦ» создано 19 сортов, включенных в Госреестр РФ и 16 - Госреестр Казахстана. В выполняемых нами селекционных программах используется комплекс усовершенствованных методов оценки коллекционного и селекционного материала на устойчивость к биотическим стрессам, молекулярно-генетические методы для идентификации генов устойчивости к грибным патогенам, а также технология тестирования *in vitro*, позволяющая выделять генотипы с повышенной устойчивостью к засухе. Показана эффективность включения в селекционный процесс в качестве исходного материала аллоплазматических ДГ-линий (гаплоидных линий с удвоенным числом хромосом), сочетающих комплексы генов устойчивости к грибным патогенам и несущих цитоплазму культурного ячменя *H.vulgare*. Так, в результате гибридизации аллоплазматической линии ДГ-17 с источником чужеродного генетического материала (Laj 3302 / Дружина) была получена гибридная популяция, поэтапное изучение которой в селекционных питомниках позволило выделить перспективные линии. Три из этих линий в 2013, 2015 и 2017 гг. были переданы на ГСИ. В 2016 г. сорт Сигма включен в Госреестр РФ по 10 региону (№ патента РФ 7950). С 2015 г. сорт Уралосибирская 2, а с 2017 г. сорт Ишимская 11 проходят Государственное сортоиспытание. Основные достоинства среднеспелых сортов Сигма, Уралосибирская 2 и среднераннего Ишимская 11 – устойчивость к листовостебельным патогенам; повышенная урожайность (урожайность превышает 5 т/га) и высокие показатели качества зерна (содержание сырой клейковины свыше 30%, белка выше 15%). Данные сорта и ДГ-линии широко используются при гибридизации. С их участием создано свыше 400 комбинаций, которые испытываются в селекционных питомниках. В 2018 г. на ГСИ передан сорт Каравай, созданный с участием ДГ-линии, характеризующийся повышенной урожайностью, устойчивостью к листовостебельным патогенам и высоким качеством зерна.

## АНТОЦИАНОВЫЕ ФОРМЫ КУКУРУЗЫ КАК ИСТОЧНИК ПОЛУЧЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И НАТУРАЛЬНОГО КРАСИТЕЛЯ

Беляченко Ю.А.<sup>1</sup>, Полуконова Н.В.<sup>2</sup>, Тырнов В.С.<sup>1</sup>, Наволокин Н.А.<sup>2</sup>, Кондратьева К.Р.<sup>1</sup>, Барбарян А.М.<sup>1</sup>, Рогожин В.В.<sup>3</sup>, Смолькина Ю.В.<sup>1</sup>, Пархоменко А.С.<sup>1</sup>, Дурнова Н.А.<sup>2</sup>, Усанов Д.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>СГУ им. Н.Г. Чернышевского, Россия, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, Адрес; <sup>2</sup>СГМУ им. В.И. Разумовского, г. Саратов, ул. Б.Казачья, 112, <sup>3</sup>ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», г. Саратов, ул. Университетская, 46,  
[juliabelyachenko@mail.ru](mailto:juliabelyachenko@mail.ru)

В состав генетической коллекции кукурузы, созданной и поддерживаемой сотрудниками кафедры генетики и лаборатории биотехнологии и репродуктивной биологии биологического факультета СГУ, входит ряд диплоидных и тетраплоидных антоциановых форм, обладающих доминантными генами маркера «коричневый Саратовский». Эти формы, имеющие пурпурную окраску, предложены в качестве источника натурального красителя, представляющего собой уникальную композицию биологически активных веществ с положительным фармакологическим действием. Наиболее перспективными для его получения диплоидными формами являются сорт кукурузы Пурпурная Саратовская (код сорта – 8354935) и созданная на его основе линия гибридного происхождения, которая отличается от исходного сорта более высоким ростом растений и бóльшим размером початков.

Предложены различные способы получения водных и спиртовых экстрактов растительного сырья из разных частей растений, разработана методика извлечения сока из стеблей кукурузы. Способ экстракции, основанный на применении ультразвуковых волн (по патенту РФ № 2399639) характеризуется высоким выходом антоцианов (до 94%).

Проведенные исследования биологических свойств экстракта, полученного из кроющих листьев початков по методике двойной спиртовой экстракции с осаждением неполярных соединений хлороформом (по патенту РФ № 2482863), свидетельствуют об отсутствии токсичности, мутагенных и канцерогенных свойств. При анализе экстракта линии гибридного происхождения установлено наличие соединений фенольной природы, включая фенольные кислоты и полифенолы (флавоноиды), среди которых представлено не менее 4 антоцианов. Показано отсутствие в составе экстракта антрагликозидов, дубильных веществ, кумаринов, кардиотонических гликозидов и алкалоидов.

При изучении биологической активности экстракта установлено его антимуtagenное, противоопухолевое, противогрибковое и антимикробное действие. Указанные свойства открывают возможности для его применения в медицине и ветеринарии. Устойчивость и возможность длительного хранения экстракта, безопасность и наличие полезных свойств определяют перспективность его использования в качестве натурального красителя для пищевой и фармацевтической промышленности, при производстве косметических средств и товаров бытовой химии.

Учитывая современную тенденцию к повышению спроса на рынке натуральных пищевых красителей, требуется создание надежной сырьевой базы для их производства на основе высокопродуктивных культур, к которым относится антоциановая кукуруза.

## БИОТЕХНОЛОГИЯ *in vitro* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ СОРТОВЫХ СЕМЯН *Alnus* и *Betula* НА ЛСП

Благодарова Т.А.<sup>1</sup>, Сиволапов В.А.<sup>2</sup> Сиволапов А.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии», Россия,

г. Воронеж, ул. Ломоносова, 105

<sup>2</sup>Филиал ФБУ «Рослесозащита» «ЦЗЛ Воронежской области»

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова»

[Tana-Blagodarova@yandex.ru](mailto:Tana-Blagodarova@yandex.ru)

Согласно «Правилам создания и выделения объектов лесного семеноводства (лесосеменных плантаций, постоянных лесосеменных участков и подобных объектов)» ЛСП создают из клонов или семей плюсовых и элитных деревьев, постоянные лесосеменные участки (ПЛСУ) – потомством лучших отобранных деревьев. При выборе способа закладки многие лесоводы – селекционеры отдавали предпочтение ЛСП вегетативного происхождения, т.к. у потомства в полной мере сохраняются наследственные свойства плюсовых деревьев. При создании прививочных плантаций применяют разные способы прививки. Однако для таких древесных пород, как ольха, береза приживаемость и сохранность прививок низкая. Поэтому метод микроклонального размножения *in vitro* имеет большую перспективу. Ольха черная начинает цвести и плодоносить в культурах с 3-6 лет, значительной семенной продуктивности она достигает лишь в 15-20 - летнем возрасте. При микроклональном размножении деревьев ольхи черной цветение начинается уже на 3-4 год. Нами приводятся сравнительные данные генеративного развития клонированных растений ольхи и сеянцев, изучен мейоз. Экспериментальная плантация заложена в Новоусманском лесничестве Воронежской области. Анализ роста клонов и сеянцев показал, что у ольхи в возрасте 10 лет различия между регенерантами и сеянцами были не существенными. Уровень изменчивости высот деревьев у регенерантов был средним – 19 %, повышенным – 25 – 27 % и высоким 32 %. Уровень изменчивости диаметров был очень высоким. Опыт представляет интерес по изучению возможности вегетативного размножения ольхи культурой ткани *in vitro*. В опыте представлены регенеранты 2 типов культуры: культура стеблевых узлов с 1 почкой и каллусная культура. В условиях теплицы регенеранты доращивались до возраста 1 - 2 лет. При этом часть из них была высажена в стаканчиках, часть – с открытой корневой системой. Сохранность регенерантов ольхи составила 67,6 %, сеянцев – 71,9 %. При сравнении роста регенерантов в опыте с закрытой и открытой корневой системой достоверно лучший рост отмечен в первом случае ( $T_{\phi}=2,75 > T_{ст.}=2,04$ ). Таким образом, первые опыты получения регенерантов ольхи и березы *in vitro* и использование последних для создания клоновых лесосеменных плантаций и культур представляют огромный интерес в селекционно-семеноводческой и лесокультурной практике.

## ФОРМИРОВАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛЕКЦИИ МИСКАНТУСА В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Бурмакина Н.В., Банникова С.В., Демидов Е.А., Мещерякова И.А., Розанов А.С.,  
Слынько Н.М., Старостин К.В., Шеховцов С.В., Пельтек С.Е.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный  
исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения  
Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), Новосибирск, Россия,  
[burmakina@bionet.nsc.ru](mailto:burmakina@bionet.nsc.ru).

Мискантус - новая техническая культура в Западной Сибири, имеющая большой биотехнологический потенциал. Он относится к роду многолетних травянистых растений семейства мятликовых и считается одним из самых эффективных аккумуляторов солнечной энергии на планете. Целлюлоза растительной биомассы представляет собой практически неисчерпаемый источник возобновляемого сырья для производства глюкозы, являющейся сырьем для получения топлива: этанола, бутанола, этилена и др. Создание и изучение данной коллекции мискантуса началось в 2014 г. Фонд коллекции представлен видами мискантуса: *M. sacchariflorus*, *M. sinensis*, *M. hybridus* (образцы собраны на Дальнем Востоке), *M. giganteus*, межвидовыми гибридами (*M. sacchariflorus* x *M. sinensis*). (Образцы получены из Германии). В полевых условиях проводилось фенотипическое изучение образцов мискантуса по признакам, определяющим продуктивность и повышение выхода биомассы: высоте и количеству побегов, длине и ширине листьев. Необходимо отметить, что дальневосточные образцы активно колонизировали окружающее пространство за счет длинных корневищ. У гибридных образцов наблюдается широкий спектр фенотипических признаков: по высоте и количеству побегов, форме куста, длине, ширине и окраске листьев, выраженности центральной серебристой жилки. На основе созданной коллекции была проведена количественная оценка содержания фермента ПФДК (пируватортофосфатдикиназы), маркирующего процесс фотосинтеза, в фотосинтезирующих листьях мискантуса сорта Сорановский (*M. sacchariflorus*), гибридных мискантусов генотипов EU083, EU084, EU088 и EU089, и растений дальневосточной коллекции (в основном *M. sacchariflorus*) во время холодной нагрузки [1]. Растения мискантуса выращивали до начала стадии кушения, средняя дневная температура составляла + 20°C. Затем помещали в темноту и держали ночь при температуре +8°C. Для эксперимента брали кусочки второго листа (на расстоянии 2 см от стебля) до темноты/холода (образцы «день») и после (образцы «ночь»). Листья растирали в жидком азоте, порошок растворяли в PBS буфере с 1% PMSF. ELISA выполняли по двум техническим повторам каждого образца с использованием разведений рекомбинантной ПФДК в качестве стандарта. Концентрация ПФДК выражена в мкг на см<sup>2</sup> листа. В основном, после холода и темноты концентрация ПФДК в листьях падает либо практически не изменяется, что согласуется с инактивацией фотосинтеза в таких условиях, однако у некоторых растений (Д2 и Д36) было отмечено повышение концентрации ПФДК после холода/темноты.

[1] A quantitative method for determination of PPDK concentration in miscanthus leaves./2016  
Irina A. Meshcheryakova, Svetlana V. Bannikova, Aleksey S. Rozanov, Elisaveta V. Demidova,  
Evgeniy A. Demidov, Tatiana N. Goryachkovskaya, Natalya V. Burmakina, Sergey V.  
Shekhovtsov, Alla V. Bryanskaya, Nikolay A. Kolchanov, Sergey E. Peltek  
GCB BIOENERGY, V. 9. P. 262–269

## РОЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ SNN3/TOX3 В РАЗВИТИИ РЕАКЦИИ СОВМЕСТИМОСТИ С УЧАСТИЕМ ЭТИЛЕНА В ПАТОСИСТЕМЕ *TRITICUM SP.- STAGONOSPORA NODORUM*

Бурханова Г.Ф.<sup>1</sup>, Веселова С.В.<sup>1</sup>, Нужная Т.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Российская Федерация, Уфа, 450054, проспект Октября, 71  
[guzel\\_mur@mail.ru](mailto:guzel_mur@mail.ru)

Септориозная пятнистость листьев пшеницы, вызываемая *Stagonospora nodorum*, комплексное заболевание контролируемое множеством генов, поэтому на сегодняшний день нет четких критериев для отбора устойчивых генотипов, что осложняет селекцию на устойчивость к данному патогену. Кроме того, *Stagonospora nodorum* вырабатывает многочисленные некротрофные эффекторы (НЭ), являющиеся факторами вирулентности. Дикорастущие виды пшеницы, особенно диплоиды и тетраплоиды, отличаются высокой частотой встречаемости образцов с устойчивостью к грибным инфекциям.

В данной работе был проведен поиск доноров устойчивости к *S. nodorum* среди представителей рода *Triticum*. Отобрано два устойчивых образца из коллекции ВИР: *T. timopheevii* к-58666 и *T. monococcum* к-39471, а также два контрастных по устойчивости сорта мягкой яровой пшеницы *T. aestivum* – Жница (восприимчивый), Омская 35 (устойчивый). У устойчивых образцов не выявлено доминантной аллели локуса восприимчивости *Snn3-1B* к НЭ *S. nodorum* SnTox3, в отличие от восприимчивого сорта Жница. На данных образцах изучено влияние трех изолятов *S. nodorum* – SnБ (Tox3<sup>+</sup>), Sn9МН(Tox3<sup>+</sup>), Sn4ВД(Tox3<sup>-</sup>), экспрессирующих или нет НЭ SnTox3. Для реакции совместимости (Snn3<sup>+</sup>/Tox3<sup>+</sup>) было характерно снижение генерации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> за счет повышения активности каталазы и низкой активности пероксидазы (ПО) и оксалаксоксидазы (ОО), а также уменьшения транскрипционной активности генов НАДФН-оксидазы и супероксиддисмутазы (СОД) на раннем этапе инфицирования (24 ч), что в дальнейшем приводило к образованию обширных зон поражения. Для реакции несовместимости (Snn3<sup>+</sup>/tox3<sup>-</sup>, snn3<sup>-</sup>/Tox3<sup>+</sup>, snn3<sup>-</sup>/tox3<sup>-</sup>) было характерно повышение генерации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> за счет снижения или отсутствия изменений активности каталазы, резкого увеличения активности ПО и ОО, а также накопления транскриптов генов НАДФН-оксидазы и СОД на раннем этапе инфицирования (24 ч), что приводило к развитию СВЧ-реакции и остановке роста патогена. Ингибирование биосинтеза этилена (с помощью AVG) или его рецепции (с помощью 1-МЦП) в комбинации Snn3<sup>+</sup>/Tox3<sup>+</sup> приводило к развитию реакции устойчивости. Тогда как при реакции полной несовместимости (snn3<sup>-</sup>/tox3<sup>-</sup>) ни ингибирование биосинтеза этилена, ни обработка его химическим предшественником (этефоном) не влияли на развитие болезни. Таким образом, показана роль взаимодействия Snn3/Tox3 в регуляции биосинтеза и сигнального пути этилена с целью колонизации растения-хозяина.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-04-00978.

## ИССЛЕДОВАНИЕ КАЧЕСТВА ДРЕВЕСИНЫ РАЗЛИЧНЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ФОРМ ТОПОЛЯ И ОСИНЫ С ИЗМЕНЕНИЕМ ВОЗРАСТА ДЕРЕВА

Вариводин В.А. , Вариводина И.Н., Машкина О.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии" (ФГБУ «ВНИИЛГИСбиотех»), ул. Ломоносова, 105, Воронеж, 394087, Россия

[warivodin@mail.ru](mailto:warivodin@mail.ru)

Среди показателей технических свойств, характеризующих качество древесины, большое практическое значение имеют показатели плотности и структурные характеристики древесинных волокон. Плотность древесины является одной из важнейших характеристик ее свойств в качестве строительного конструкционного материала, а также в качестве сырья для различного назначения. Длина волокна, толщина клеточных оболочек – эти показатели имеют большое значение в производстве целлюлозы, бумаги, древесноволокнистых плит и других продуктов переработки древесины.

Целью работы явилось исследование показателей качества древесины тополя и осины с целью выявления наиболее перспективных селекционных форм для условий Центрально-Черноземного региона с учетом возрастных изменений при росте дерева.

Объектами исследования явились: 1) четыре быстрорастущих и продуктивных разноплоидных гибрида тополя белого: диплоидные,  $2n=2x=38$  и триплоидные ( $2n=3x=57$ ) в возрасте 31 года, созданные О.С. Машкиной с использованием в гибридизации искусственно синтезированной с помощью повышенной температуры нередуцированной диплоидной пыльцы; 2) три размноженных *in vitro* клона (в возрасте 17 лет) продуктивных и гнилеустойчивых биотипов осины, отобранных Ю.Н. Исаковым в тремулетеуме, созданном В.П. Петрухновым в 1973-1975 годах.

Для лабораторных исследований в Семилукском питомнике Воронежской области были отобраны керны древесины с помощью возрастного бурава на высоте 1,3 м от корневой шейки. Для определения базисной плотности древесины был использован способ максимальной влажности. Плотность древесины в абсолютно сухом состоянии определялась стереометрическим методом. Для определения структурных характеристик древесинных волокон проводили мацерацию образцов древесины методом Франклина.

По показателям технических свойств древесины выявлены перспективные клоны тополей и осин, которые в Центрально-Черноземном регионе дают оптимальные результаты. Полученные результаты позволяют утверждать, что создание лесосырьевых плантаций гибридных тополей и осин в условиях Южной лесостепи может стать перспективным направлением лесовыращивания.

[1]. Вариводина И.Н. Взаимозависимости основных показателей качества древесины как природного полимера // Журнал Актуальные направления научных исследований XXI века: теория и практика 2014. Т. 2. № 2-1 (7-1). Издательство: Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова (Воронеж). С. 39-42.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТОМАТОВ, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ *rapA1*, И *PSEUDOMONAS* SP. 102 КАК ЭФФЕКТИВНАЯ СИМБИОТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ

Вершинина З. Р.<sup>1</sup>, Хакимова Л. Р.<sup>1</sup>, Лавина А. М.<sup>1</sup>, Каримова Л. Р.<sup>1</sup>, Федяев В. В.<sup>2</sup>,  
Баймиев Ан. Х.<sup>1</sup>, Баймиев Ал. Х.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, Уфа, Проспект Октября, 71

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Башкирский государственный университет, Россия, Уфа, улица Заки Валиди, 32  
[zilyaver@mail.ru](mailto:zilyaver@mail.ru)

В настоящее время все более актуальной становится проблема загрязнения почв тяжелыми металлами (ТМ), которые токсичны для всех живых организмов и вызывают тяжелые заболевания животных и человека. Фиторемедиация представляет собой устранение, обезвреживание или перевод в менее токсичную форму экотоллютантов с помощью растений. Данный метод достаточно часто применяют в случаях загрязнения почв ТМ, используя растения-гипераккумуляторы ТМ для восстановления биологической продуктивности экосистем. Для эффективной фиторемедиации исключительно важен поиск почвенных бактерий, повышающих доступность ТМ для растений. При этом если данные бактерии будут обладать ростостимулирующими свойствами, это значительно повысит устойчивость растений к стрессам, вызванным ТМ. Наиболее перспективны в этом плане бактерии рода *Pseudomonas*, широко распространенные в ризосфере растений. На сегодняшний день достаточно хорошо изучены факторы, обуславливающие ростостимулирующую активность данных бактерий и возможность их использования в фиторемедиации.

Томат (*Solanum lycopersicum* L.) является одной из важнейших овощных культур в сельском хозяйстве многих стран. В связи с распространением загрязнения почв ТМ, в последние годы стали популярны исследования, посвященные накоплению ТМ в растениях томата, защите данной культуры от ТМ, а также потенциальному использованию томатов к фиторемедиации, в том числе совместно с бактериями или грибами - микросимбионтами.

В настоящей работе было показано, что штамм *Pseudomonas* sp. 102, обладающий высокой устойчивостью к токсичному действию кадмия и ростостимулирующей активностью, может значительно увеличить ростовые параметры и биомассу растений томата, в том числе в условиях стрессового воздействия кадмия. При этом наибольший положительный эффект наблюдался на растениях, трансформированных геном бактериального адгезина *rapA1*, способствующим колонизации бактериями корней растений. Также было показано, что побеги трансгенных растений томата накапливают наибольшее количество кадмия при инокуляции *Pseudomonas* sp. 102. Способность экстрагировать высокие концентрации кадмия и накапливать большую биомассу открывает перспективы для дальнейшего использования ассоциативных взаимодействий между томатом и *Pseudomonas* для фиторемедиации.

Работа была выполнена в рамках госзадания (тема № АААА-А16-116020350028-4) при финансовой поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований № 16-04-00902 а, №18-34-00033 мол\_а, № 18-34-20004 мол\_а\_вед.

## ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ ВОСПРИИМЧИВОСТИ *SNN* И ГЕНОВ ЭФФЕКТОРОВ *TOX* В ПАТОСИСТЕМЕ *TRITICUM AESTIVUM* - *STAGONOSPORA NODORUM*

Веселова С.В.<sup>1</sup>, Бурханова Г.Ф.<sup>1</sup>, Нужная Т.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Российская Федерация, Уфа, 450054, проспект Октября, 71  
[veselova75@rambler.ru](mailto:veselova75@rambler.ru)

Септориоз листьев и колоса, вызываемый гембиотрофным грибом *Stagonospora nodorum* Berk. - вредоносное и широко распространенное в Российской Федерации заболевание пшеницы. Взаимоотношения в патосистеме пшеница – *S. nodorum* осуществляются по типу «ген-на-ген» в зеркальном отражении и основаны на наличии некротрофных эффекторов (НЭ) и соответствующего локуса восприимчивости у хозяина (*Snn*). НЭ являются важнейшими факторами вирулентности патогена и индуцируют некрозы и хлорозы на листьях восприимчивых сортов. На сегодняшний день охарактеризовано восемь НЭ патогена и девять соответствующих им *Snn* локусов пшеницы. В данной работе было изучено три взаимодействия *SnToxA-Tsn1*, *SnTox1-Snn1*, *SnTox3-Snn3-1B*.

Проведена ПЦР диагностика генов НЭ *ToxA*, *Tox1* и *Tox3* у трех изолятов *S. nodorum* – SnБ, Sn4ВД, Sn9МН. Изоляты Sn4ВД и Sn9МН содержали в геноме все три гена НЭ, а изолят SnБ содержал только гены *ToxA* и *Tox3*. Анализ транскрипционной активности данных генов НЭ показал отсутствие экспрессии всех трех генов у авирулентного изолята Sn4ВД и максимальное накопление транскриптов гена *Tox3* через 24 часа и гена *ToxA* через 72 часа после инокуляции восприимчивого сорта Жница вирулентными изолятами SnБ и Sn9МН.

Проведена ПЦР диагностика аллелей генов восприимчивости *Tsn1*, *Snn1* и аллелей локуса *Snn3-1B* у 12 сортов мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) районированных в Республике Башкортостан. Ген восприимчивости *Tsn1* был выявлен только у 2 сортов, что составляло 16,7% встречаемости. Ген восприимчивости *Snn1* - у 11 сортов (91,7%). Локус восприимчивости *Snn3-1B* был обнаружен у 5 сортов (41,7%).

Для исследования молекулярных механизмов инфекционного процесса изучены четыре сочетания генотипов на примере взаимодействия *Snn3/Tox3*: *Snn3<sup>+</sup>/Tox3<sup>+</sup>*, *snn3<sup>-</sup>/Tox3<sup>+</sup>*, *Snn3<sup>+</sup>/tox3<sup>-</sup>*, *snn3<sup>-</sup>/tox3<sup>-</sup>*. Известно, что НЭ *SnTox3* влияет на генерацию активных форм кислорода в растениях пшеницы. Нами показано, что специфическое взаимодействие ген-на-ген (*Snn3/Tox3*) переключается на неспецифические сигнальные пути защиты, связанные с этиленовым сигнальным путем и изменением редокс-метаболизма инфицированных растений пшеницы.

Таким образом, гены восприимчивости *Tsn1*, *Snn1* и *Snn3* могут быть использованы как молекулярные маркеры для MAS, а изучение механизма взаимоотношений *Snn/Tox* позволит расширить знания о патосистеме пшеница – *S. nodorum* и разработать стратегии устойчивости к септориозу и другим заболеваниям.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-04-00978.

## АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИЕЙ РАЗВИТИЯ ЗАРОДЫША, У ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛИНИИ КУКУРУЗЫ

Волохина И.В., Моисеева Е.М., Гуторова О.В., Гусев Ю.С., М.И. Чумаков

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук,  
410049 Саратов, пр-т Энтузиастов, д. 13

[volokhina\\_i@ibppm.ru](mailto:volokhina_i@ibppm.ru)

Размножение семенами без оплодотворения (апомиксис) культурных форм растений может стать революционной инновационной биотехнологией в растениеводстве, которая позволит снизить затраты на репродукцию. Для создания такой технологии необходимо знание молекулярно-генетического механизма переключения с полового на апомиксис способ размножения. У основных возделываемых видов растений апомиксис отсутствует, хотя распространен у их «диких» сородичей, например, у дикого предка кукурузы – трипсакума (*Tripsacum dactyloides* L.) [1]. Нами была исследована партеногенетическая (АТ-3) и контрольная (ГПЛ-1) линии кукурузы, полученные саратовскими селекционерами [2]. Растения линии АТ-3 склонны к наследуемому матроклинному партеногенезу или гиногенезу, когда в определенном проценте зародышевых мешков (ЗМ) происходит спонтанное развитие зародыша из неоплодотворенной яйцеклетки. Однако генетический контроль этого явления не ясен. Было предположено, что апомиксис может возникнуть в результате временного или пространственного разрегулирования транскрипционных программ, которые контролируют половое размножение у растений [1]. Методом количественной ПЦР в ЗМ (до и после опыления) была исследована экспрессия генов, связанных с метилированием и ацетилизацией ДНК (*dmt102*, *dmt103*, *dmt105*, *hdt104*, *hon101*), а также гена *chr106*, кодирующего хроматин-модулирующий фактор. Спустя 7 дней после появления рылец (7ДППР) в ЗМ экспрессия всех исследованных генов не отличалась у обеих исследованных линий, за исключением генов метилирования ДНК (*dmt103* и *dmt105*), экспрессия которых была меньше у линии АТ-3. Через 7 дней после опыления (7ДПО) экспрессия генов *dmt103* и *hdt104* в ЗМ у АТ-3 увеличивалась, а генов *dmt102*, *dmt105*, и *hon101* уменьшалась, по сравнению с линией ГПЛ-1. У ГПЛ-1 экспрессия всех исследованных генов из ЗМ через 7ДПО уменьшалась, по сравнению с 7ДППР. Сходную тенденцию по экспрессии генов через 7ДПО наблюдали и для линии АТ-3, за исключением генов *dmt105* и *chr106*, экспрессия которых уменьшалась для генов *dmt105* и *chr106*, по сравнению с 7ДППР. В докладе обсуждаются вопросы о возможной связи наблюдаемой экспрессии исследованных генов с проявлением гиногенеза и использование CRISPR/Cas9 технологии для редактирования генов, контролирующих половое размножение у кукурузы, а также при анализе проблемы безопасного совместного выращивания исходных и CRISPR/Cas9-трансформированных растений.

Литература:

[1] Grimanelli D. Epigenetic regulation of reproductive development and the emergence of apomixis in angiosperms // 2012, Curr. Op. Plant Biol. V.15. P. 57-62.

[2] Тырнов В.С., Еналеева Н.Х., Автономное развитие зародыша и эндосперма у кукурузы // 1983, Доклады Академии Наук. Т. 272. С. 722-725.

**Благодарности:** Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов №№18-016-00155, 18-29-14048.

## СОЗДАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ АНТОЦИАНОВ В ЗЕРНЕ

Гордеева Е.И.<sup>1</sup>, Генералова Г.В.<sup>1</sup>, Щукина Л.В.<sup>1</sup>, Юдина Р.С.<sup>1</sup>, Шоева О.Ю.<sup>1</sup>,  
Хлесткина Е.К.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44  
[elgordeeva@bionet.nsc.ru](mailto:elgordeeva@bionet.nsc.ru)

Пшеница (*Triticum aestivum* L.;  $2n = 6x = 42$ , геном ВВААDD) является важнейшей злаковой культурой, которая обеспечивает по данным ООН до 20% калорий, потребляемых населением планеты. В последние годы возрастает интерес к производству пшеницы, накапливающей антоциановые соединения в зерне, как к источнику полезных для здоровья функциональных пищевых продуктов, которые при включении в рацион обеспечивают снижение риска возникновения некоторых заболеваний.

У пшеницы антоцианы могут накапливаться в перикарпе, где их биосинтез контролируется комплементарно взаимодействующими генами *Pp-D1* и *Pp3*, которые были картированы в хромосомах 7D и 2A, соответственно. Синтез антоцианов в алейроновом слое контролируется генами *Va*, унаследованными мягкой пшеницей от пырея в ходе межвидовой гибридизации и локализованными в чужеродных хромосомах, замещающих хромосомы 4 гомеологической группы. Нами были подобраны внутригенные маркеры к доминантным аллелям генов *Pp-D1*, *Pp3* и *Va*, которые совместно с микросателлитными маркерами, сцепленными с этими генами, использовались для получения линий с различными комбинациями аллелей в локусах *Pp* и *Va*. Полученный набор включает на данный момент 19 линий на основе ярового сорта мягкой пшеницы Саратовская 29, из которых окрашенным перикарпом обладают 5 линий, окрашенным алейроном – 4, одновременно и перикарпом, и алейроном – 4. Эти линии вместе с неокрашенными представляют интерес для сравнительных исследований, направленных на изучение взаимодействия регуляторных генов биосинтеза антоцианов и оценку влияния антоцианов на стрессоустойчивость растений пшеницы, качество зерна и хлеба, а также на характеристики хлебобулочных и кондитерских изделий. Полученные линии охарактеризованы по содержанию антоцианов, антиоксидантной активности и качеству зерна. Некоторые линии и разработанная методика ускоренного отбора генотипов с нужными аллелями генов *Pp* и *Va* используются в настоящее время для получения на основе элитных сортов яровой мягкой пшеницы новых сортов, зерно которых обогащено антоцианами.

**Благодарности:** Работа в части получения и оценки линий с окрашенным алейроновым слоем выполнена в рамках темы государственного задания ИЦиГ СО РАН № 0324-2018-0018.

## СЕЛЕКЦИЯ ДЕКОРАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ЛАНДШАФТНОГО ДИЗАЙНА Г.БАКУ

Мамедов Т.С., Гюльмамедова Ш.А.

*Институт Дендрологии Национальной Академии Наук Азербайджана, г.Баку*  
*shalala.g@mail.ru*

Парки, скверы, сады и бульвары г.Баку – это основные виды зелёных устройств общественного пользования для массового отдыха, прогулок, культурных развлечений и спорта.. В условиях Апшерона, при отсутствии естественных лесных насаждений, эти виды зелёных устройств являются одним из основных факторов оздоровления условий жизни городского населения и обогащения архитектурного облика города.

Согласно существующим санитарно- гигиеническим нормам в крупных промышленных городах, в том числе и в г.Баку, площадь зелёных насаждений должна составлять 45-50% от общей жилой застройки или 26-30 м<sup>2</sup> на одного жителя [1].

Каждый год парки, скверы, сады и бульвары г.Баку обогащаются интродуцированными из зарубежных стран и местной флоры декоративными деревьями, кустарниками и травянистыми растениями. К таким растениям относятся например, шинус, падуб, казуарина, магнолия, тюльпанное дерево, голубая ель, каллистемон, пальма, фотуния, пираканта и т.д. Подбор древесных и кустарниковых пород для озеленения и парково-садового строительства г.Баку определяется почвенными и климатическими условиями как Апшеронского полуострова в целом, так и отдельных его микрорайонов. [2].

С целью селекции декоративных растений для ландшафтного дизайна г.Баку, обогащения разнообразия видов и сортов растений используемых в озеленении Апшерона, создания научными методами различных форм композиций в Институте Дендрологии Национальной Академии Наук Азербайджана, в лаборатории «Ландшафтной архитектуры» проводится научно-исследовательская работа.

В озеленении города использование видов сосны, кипариса, туи, клёна, липы, ели, берёзы, граба является основным фактором в очищении окружающей среды от загрязнителей [3].

В научно-исследовательской работе на открытом участке и в условиях оранжереи Института изучены биоэкологические особенности интродуцированных из Голландии, Америки, других стран и местной флоры в условия Апшерона различных видов и сортов декоративных деревьев, кустарников и травянистых растений, проведена селекция перспективных декоративных растений адаптированные к местным почвенно-климатическим условиям Апшерона, на территории Дендрария и в парках, садах, скверах г.Баку из исследованных растений созданы различные формы композиций. На территории г.Баку проведен мониторинг и выявлен таксономический состав перспективных древесно-кустарниковых и травянистых растений используемых в настоящее время в озеленении Апшерона, при создании композиций: около 50 родов древесно-кустарниковых и около 70 родов травянистых растений.

С целью изучения дендрофлоры Апшерона, в том числе перспективы использования для озеленительных работ древесно-кустарниковых и травянистых интродуцентов в научно-исследовательской работе в парках и садах были проведены следующие работы:

1. В садово-парковых зонах г.Баку выявлен таксономический состав древесно-кустарниковых травянистых интродуцентов.
2. Проведён их систематический, биологический и экологический анализ.
3. Определены категории использования интродуцентов в хозяйстве.
4. Проведена селекция перспективных видов для озеленения города.
5. Растения сгруппированы по высоте, листопадности, вечнозелёности и др. особенностям.

В результате проведения научно-исследовательской работы в Институте Дендрологии выявлено, что интродуцированные древесно-кустарниковые и травянистые растения хорошо

адаптируются в условиях Апшерона, являются перспективными и могут быть использованы в ландшафтном дизайне г.Баку при создании композиций.

1.Агамиров У.М., Алиев А.Р., Сафаров И.С. Ассортимент деревьев и кустарников для озеленения Баку и Апшерона. - Баку: Азерб. Гос. Изд., 1976, с.3.

2.Под редакцией Бржезицкого М.В., Кадырова Г.М., Прилипко Л.И. Вопросы озеленения Апшерона. - Баку: Изд. Акад. Наук Азерб. ССР, 1956, с. 9, 15.

3. Məmmədov T.S. Abşeronun ağac və kolları. – Bakı: “Elm və təhsil” nəşr., 2010, s.8

## СОЗДАНИЕ ЦЕННОГО ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ MAS

Давоян Э.Р., Беспалова Л.А., Давоян Р.О., Болдаков Д.М., Зубанова Ю.С., Мигов Д.С., Агаева Е.В., Филобок В.А.

ФГБНУ НЦЗ им. П.П. Лукьяненко, Россия, Краснодар, центральная усадьба КНИИСХ, 350012

[davayan@rambler.ru](mailto:davayan@rambler.ru)

Приведены результаты по MAS (селекции с помощью молекулярных маркеров) мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в НЦЗ им. П.П. Лукьяненко. Данный подход сочетает интрогрессию необходимого гена(ов) методом беккроссов и последующий маркерный отбор по генотипу. Проведён анализ 2816 образцов мягкой пшеницы на присутствие молекулярных маркеров, сцепленных с генами *Lr9*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37*, детерминирующих устойчивость к листовой ржавчине (*Puccinia triticinia* Erikss.). Отобраны образцы, несущие как единичные гены, так и их комбинации: *Lr24+Lr26*, *Lr26+Lr37*, *Lr9+Lr26*, *Lr9+Lr37*, *Lr34+Lr37*, *Lr9+Lr24*, *Lr24+Lr37*, *Lr24+Lr26+Lr37*, *Lr24+Lr26+Lr9*. Изучено 352 линии мягкой пшеницы по аллельным вариантам генов *WxA1*, *WxB1*, *WxD1*, кодирующих синтез амилозы в крахмале. Выявлено 64 линии с функциональным аллелем *WxB1e*, отличным от такового дикого типа. Отобраны линии, несущие нуль аллели генов *WxA1*, *WxB1*, *WxD1*: 147, 58 и 90 соответственно. 113 линий несли сочетание из 2х и 3х нуль-аллелей генов *WxA1*, *WxB1*, *WxD1*. Идентифицированы аллели генов короткостебельности или карликовости *Rht1*, *Rht2*, *Rht-11*, *Rht8*. В 249 образцах идентифицирована аллель *RhtB1b* (ген *Rht1*), 178 образцов несут аллель *RhtD1b* (ген *Rht2*), в 190 образцах обнаружена аллель *RhtB1e* (ген *Rht11*). Ген *Rht8* найден в 461 исследованном образце. С использованием аллель-специфичных праймеров проведен анализ аллельного состава генов *Ppd-1* (*photoperiod response*), *Vrn-1* (*vernalisation response*), определяющих фотопериодическую чувствительность и потребность в яровизации у 835 образцов мягкой пшеницы. Согласно идентифицированным аллелям, образцы распределились по 23 полиморфным гаплотипам. В изученных образцах преобладает доминантный аллель гена *Ppd-D1a*, обеспечивающий нейтральную реакцию на фотопериод. У большинства образцов присутствует рецессивный аллель хотя бы одного гена *Vrn*, что приводит к увеличению сроков колошения при отсутствии яровизации. В 115 образцах выявлена комбинация рецессивных аллелей локусов *Vrn-1*, что определяет озимый тип развития этих растений. Выявлены перспективные линии, которые могут успешно развиваться по озимому и яровому типу.

Таким образом, с использованием MAS получен новый, ценный для селекции мягкой пшеницы исходный материал.

## РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА *GATA23* И МЕМБРАННО-СВЯЗАННОГО КИНАЗНОГО РЕГУЛЯТОРА *MAKR4* В ИНИЦИИ БОКОВОГО КОРНЯ У ТЫКВЕННЫХ

Демченко К.Н. , Кирюшкин А.С., Ильина Е.Л., Пучкова В.А.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Россия, Санкт-Петербург, ул.

Профессора Попова, 2

[demchenko@binran.ru](mailto:demchenko@binran.ru)

Наиболее ранними маркерами развития бокового корня у *Arabidopsis* являются транскрипционный фактор *GATA23* и мембранно-связанный белок MEMBRANE-ASSOCIATED KINASE REGULATOR4 (*MAKR4*). Целью данной работы является поиск и изучение ортологов генов *GATA23* и *MAKR4* *Arabidopsis* у представителей семейства тыквенные: огурца (*Cucumis sativus*) и кабачка (*Cucurbita pepo*), характеризующихся быстрым типом ветвления корневой системы. Инициация и развитие бокового корня у этих видов происходит в пределах апикальной меристемы родительского корня.

Известно, что *GATA23* *Arabidopsis* специфичен для крестоцветных, поэтому у кабачка и огурца были идентифицированы все гены данного семейства. Экспрессия *GATA23* положительно регулируется ауксином, вследствие чего поиск ортологов этого гена был направлен на выявление генов *GATA*, экспрессия которых активируется ауксином. В результате анализа уровней экспрессии генов *GATA* огурца и кабачка в ответ на изменение концентрации экзогенного ауксина был идентифицирован единственный ортолог – ген *GATA24*. Анализ трансгенных корней с применением лазерно сканирующей конфокальной микроскопии показал, что активность промотора этого гена сначала отмечается в ряду клеток протоксилемы. Чуть позже экспрессия этого гена активируется в перицикле, а затем в клетках эндодермы и стелярной паренхимы. Важно, что, в отличие от *AtGATA23* у кабачка активность промотора ортолога сохраняется и между развивающимися примордиями.

В геноме кабачка был выявлен единственный ортолог гена *MAKR4* *Arabidopsis*. Экспрессия этого гена положительно регулируется аналогами ауксина: индолилмасляной кислотой и нафтилуксусной кислотой, и не регулируется индолилуксусной кислотой. Промотор гена *MAKR4* кабачка активен в протоксилеме, незадолго до первых формативных делений в перицикле. Затем домен экспрессии охватывает клетки примордия и стелярной паренхимы материнского корня. Экспрессия *MAKR4* активна между развивающимися примордиями. По мере развития примордия, и вовлечения эндодермы и нескольких внутренних слоев коры, экспрессия *MAKR4* происходит во всех его клетках.

Полученные данные позволили идентифицировать функциональные ортологи генов *MAKR4* и *GATA23* *Arabidopsis* у тыквенных. Домены экспрессии этих генов значительно различаются по сравнению с таковыми у *Arabidopsis*. Кроме того, опираясь на данные об активности промоторов этих генов, можно предположить, наличие пока неизвестного сигнала, отличного от ауксина, распространяющегося из протоксилемы и запускающего экспрессию генов *MAKR4* и *GATA24* в клетках основательница примордия, а также поддерживающего их экспрессию в стелярной паренхиме между примордиями.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 16-16-00089).

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АРХИТЕКТУРЫ СОЦВЕТИЯ ПШЕНИЦЫ

Добровольская О.Б.<sup>1,2</sup>, Дресвянникова А.Е.<sup>1,2</sup>, Володина Е.А.<sup>2</sup>, Красников А.А.<sup>3</sup>,  
Ю.Л. Орлов<sup>1</sup>, Н. Ватанабэ<sup>4</sup>, П. Мартинек<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, просп. академика Лаврентьева  
10, Россия <sup>2</sup> Всероссийский центр карантина растений, Московская обл., Раменский район,  
п. Быково, ул. Пограничная 3, Россия <sup>3</sup> Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,  
г. Новосибирск, ул. Золотодолинская 101, Россия <sup>4</sup> Сельскохозяйственный колледж,  
Университет Ибараки, Япония <sup>5</sup> Agrotest Fyto, Ltd., Кромержжиз, Чехия  
[oxanad@bionet.nsc.ru](mailto:oxanad@bionet.nsc.ru)

Соцветие пшеницы *Triticum* L. представляет собой сложный колос с главной осью, несущей латеральные сидячие колоски, непосредственно прикрепленные к колосковому стержню, и терминальный колосок. Архитектура соцветия пшеницы определяется особенностями функционирования различных типов меристем. Некоторые гены, контролирующие активность меристем соцветия пшеницы, были идентифицированы, однако информация о генетических путях, контролирующих процессы развития и активности меристем, остается ограниченной и недостаточной. Для решения этой проблемы проведены исследования на генетических моделях, линиях пшеницы разного уровня ploidy в пределах эволюционной линии Emmer, имеющих аномалии в развитии колоса, базовой структуры в составе соцветия злаков. Работа выполнена с применением классических и современных подходов генетики и биологии развития, включая высокопроизводительное генотипирование, световую и электронную микроскопию и биоинформатические подходы. Было обнаружено, что развитие дополнительных органов колоска (чешуй и цветков) и удлинение оси колоска соцветия вида *T. jakubzinerii* (ВВАА) являются следствием нарушений детерминированности меристемы колоска под контролем рецессивного аллеля гена *sham ramification 1 (shr1)*. Развитие дополнительных органов колоска не сопровождается изменением филлотаксиса. Таким образом, функция гена *Shr1* (5A) в развивающемся соцветии пшеницы связана с определением детерминированности меристем колоска. Обнаружено, что наличие рецессивного аллеля гена *sham ramification 2 (2A)* приводит к нарушению установления идентичности колосковых меристем дистальной части колоска, изменению детерминированности колосковой меристемы линий пшеницы *T. turgidum* L. (ВВАА). В результате этих нарушений формируется фенотип «ложно-истинного ветвления колоса», который характеризуется наличием дополнительных колосков на удлиненной оси колоска. Обнаружено, что гены *Shr1* и *Shr2*, определяющие ложно-истинное и ложное ветвление колоса, наследуются независимо. Таким образом, по меньшей мере два различных генетических пути регуляции участвуют в установлении детерминированности меристемы колоска пшеницы.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-04-004830)

## СЕЛЕКЦИЯ ПЕРЦА СЛАДКОГО ДЛЯ ПЛЕНОЧНЫХ ТЕПЛИЦ

Добродькин М. М.<sup>1</sup>, Пугачёва И. Г.<sup>1</sup>, Моисеева М. О.<sup>1</sup>, Невестенко Н. А.<sup>1</sup>,  
Никонович Т. В.<sup>1</sup>, Добродькин А. М., Никитинская Т. В.<sup>2</sup>, Бабак О.Г.<sup>2</sup>, Кильчевский  
А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, Беларусь, Горки, ул. Мичурина, 5.

<sup>2</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, ул. Академическая 27.  
[dobro\\_1962@mail.ru](mailto:dobro_1962@mail.ru)

Основным направлением работы являлось создание гибридов F<sub>1</sub> и сортов перца сладкого с высокими биохимическими и технологическими качествами плодов. Комбинирование ряда целевых генов в одном генотипе возможно с помощью разработки и совершенствования методов отбора генотипов, поиском и использованием ДНК-маркеров селективных генов на всех этапах селекционного процесса, в связи с этим классические методы селекции (гибридизация и отбор) основывались на результатах молекулярных анализов на этапах подбора родительских форм и отбора образцов из расщепляющихся поколений F<sub>2-3</sub>.

Методы маркер-сопутствующей селекции перца сладкого применялись для ДНК-типирования генов качества плодов (Y-детерминирующего накопление капсантина и капсорубина, *cl*- замедляющего разрушение хлорофилла), устойчивости к болезням и вредителям (*Me1* - к галловой нематоды, *Pvr1* - к Y вирусу картофеля и *pt* - мучнистой росе, *Tsw* - к вирусу пятнистого увядания томата), а также гена *Sp*, определяющего тип роста стебля.

В результате маркер-сопутствующей селекции созданы и районированы в Беларуси сорта Чырвоны Магнат, Алтын, Червонец и Горецкий Красный, а также гибрид F<sub>1</sub> Каштоуны, сочетающие в себе высокую урожайность, устойчивость к болезням, повышенное накопление каротиноидов и витамина С.

## РОЛЬ ГЕНОФОНДА ВИР В РЕШЕНИИ ПРИОРИТЕТНЫХ ЗАДАЧ СЕЛЕКЦИИ ЛЮПИНА БЕЛОГО

Захарова М.В. , Лукашевич М.И.

*ВНИИ люпина – филиал ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса», Россия, Брянская обл.,  
Брянский р-он, п. Мичуринский, ул. Березовая, 2,  
lupin.albus@mail.ru*

Люпин белый среди зернобобовых культур отличается высоким потенциалом урожайности (5-5,5 т/га зерна и 60-70 т/га зеленой массы), по качеству зерна приближается к сое (содержит 36-40% белка и 8-10% жира).

Приоритетными направлениями селекции являются: повышение потенциала зерновой продуктивности, оптимальный период вегетации (110-120 суток), комплексная устойчивость к антракнозу и фузариозу, селекция на засухоустойчивость, на улучшение качества продукции – пониженное содержание алкалоидов и клетчатки в зерне, повышенное содержание белка и жира.

Рабочая коллекция по белому люпину во ВНИИ люпина представлена 150 образцами – это образцы, полученные из ВИРа и лучшие номера собственной селекции.

Коллекционные образцы различаются по морфотипу растения. Сорты Мичуринский (к-3935), Дега (к-3809), включенные в Госреестр селекционных достижений, австралийский сорт Андромеда – низкорослые щиткового морфотипа, с высотой растений 55-65 см и интенсивностью бокового ветвления от 1,5 до 4,5 продуктивных боковых побегов на растении, с расположением их на уровне главной цветковой кисти. Сорт Альый парус, к-3682 МК 10 (Португалия), египетские образцы – к-3665, 3667, к-3670 и др., эфиопские – к-484, к-486, к-495 имеют квазидикий морфотип, высота растений 85-110 см, от двух продуктивных боковых побегов с расположением выше центральной цветковой кисти. Окраска венчика цветка изучаемых образцов белая, розовая и синяя с различной насыщенностью пигмента.

Высокопродуктивными по зерну и зеленой массе являются сорта зарубежной селекции: к-1426 (Германия), к-1437 (Греция), к-3665 (Египет), к-2385 из Португалии и др. Лучшими адаптивными свойствами обладает сорт Андромеда, ежегодное превышение семенной продуктивности над стандартом 8-67%.

Биохимические исследования показали, что у люпина белого имеются формы с высоким (39-41%) содержанием сырого протеина в семенах. Это к-2202, к-2240 и к-3030 из Украины, к-486 и к-495 из Эфиопии, к-3665, к-3667 и к-3670 из Египта. Они превышают стандарт Мичуринский по протеину на 3-4%, однако являются позднеспелыми и алкалоидными.

Быстрым темпом роста после всходов отличаются к-682 (Югославия), к-2359 (Испания), к-2808 (Украина), к-3666 (Египет).

Наиболее скороспелыми в наших условиях являются сорта Дега, Мичуринский, Гамма (к-3705), Детер 1, их вегетационный период 100-110 суток.

На основе лучших коллекционных и селекционных образцов формируются признаковые рабочие коллекции белого люпина по скороспелости, высокобелковости, продуктивности и другим признакам.

## СЕЛЕКЦИЯ ГИБРИДОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ КУЛЬТУРЫ ИЗОЛИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ

Колесникова Е.О.<sup>1</sup>, Бердников Р.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ООО "СоюзСемСвекла", Россия, Воронежская область, п. ВНИИСС;

[kolesnikovaeo@souzsemsvekla.ru](mailto:kolesnikovaeo@souzsemsvekla.ru)

Селекционно-семеноводческий процесс создания трехлинейных гибридов сахарной свеклы на основе цитоплазматической мужской стерильности характеризуется непрерывностью, включая в себя скрещивание стерильных форм с неродственным закрепителем стерильности, а также дальнейшее скрещивание с многосемянным опылителем. Поддержание компонентов гибридов реализуется посредством инцукта, что сопряжено с преодолением несовместимости. В коммерческих целях используют семенной материал F<sub>1</sub>, поскольку в этом случае в полной мере проявляется эффект гетерозиса. В последующих поколениях при генеративном размножении он может теряться. Сохранение у гибридов ценных свойств является актуальной проблемой, поскольку основным способом размножения *Beta vulgaris* L. является семенной, при котором трудно сохранить генетическую однородность селекционных форм [1, 2]. Вместе с тем, у растений-регенерантов *in vitro* длительно сохраняются признаки исходных линий - фенотип, плоидность, биохимические и генетические свойства. В этом ключе актуальным явилось внедрение приемов культуры изолированных тканей в процесс создания высокопродуктивных гибридов. Целью исследований был подбор лимитирующих условий для эффективного микроклонирования и сохранения перспективных генотипов сахарной свеклы в культуре тканей. В ходе работы были усовершенствованы подходы к индивидуальному отбору в открытом грунте соответствующих всем требуемым показателям растений-доноров эксплантов и непосредственно самих меристем цветonoсных побегов. Были установлены параметры стерилизации хлорсодержащим агентом и антибиотиком вводимого *in vitro* материала с получением безинфекционных эксплантов в количестве 96-100%. Увеличение выхода размножаемого материала *Beta vulgaris* L. достигалось за счет интенсификации процессов побегообразования, роста и развития эксплантов. Были выявлены аспекты, позволяющие значительно снизить уровень вторичной инфицированности культивируемых микроклонов. Подобранные параметры позволили ввести в культуру тканей индивидуально отобранные генотипы компонентов перспективного отечественного гибрида сахарной свеклы и массово размножить в виде линий с последующим укоренением и получением корнеплодов *ex vitro*. Полученный выровненный по основным показателям материал используется в селекционном процессе создания высокопродуктивных коммерческих гибридов *Beta vulgaris* L. нового поколения.

[1]. Мазлумов А.Л., Селекция сахарной свёклы. М., Колос. – 1970, 208 с.

[2]. Ошевнев В.П., Грибанова Н.П., Колосова Н.Н., Самодурова Н.И., Новикова Л.Ю., Изучение генофонда линий сахарной свёклы на гетерозис по урожайности и сахаристости корнеплодов. // Сборник научных трудов, Воронеж: Воронежский ЦНТИ – филиал ФГБУ «РЭА» Минэнерго России, 2014, С. 3 – 9.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ КОЛЛЕКЦИИ РИСА

Краснова Е.В., Костылев П.И., Аксенов А.В.

ФГБНУ «АНЦ «Донской», Россия, Зерноград, Научный городок, 3

[krasnovaelena67@mail.ru](mailto:krasnovaelena67@mail.ru)

Рис – важная культура Земли. Сортовой состав лимитирует рост урожайности риса. Нужны высокоурожайные сорта, устойчивые к стрессорам среды, болезням и вредителям, с высоким качеством зерна, отвечающие требованиям интенсивного земледелия. Изучение потенциала исходного материала риса и вовлечение его в селекционный процесс является актуальным и имеет большое практическое значение. В условиях Ростовской области изучен полиморфизм более 1000 образцов риса из 25 стран мира из коллекции ВИР, IRRI, ВНИИ риса, АНЦД по высоте растений, вегетационному периоду, длине метелки, длине и ширине зерновки, числу колосков и зерен в метелке и их массе. Образцы варьировали от ранне- до позднеспелых (101-140 дней до созревания). Для селекционной работы отобраны образцы с вегетационным периодом 101-120 дней. Низкорослые растения с толстой соломиной и эректоидным расположением листьев и метелок способны выдерживать высокие дозы удобрений без полегания. В качестве доноров снижения высоты рекомендованы карликовые формы с длиной соломины 20-50 см и низкорослые (50-60 см). Карликовость определяется рецессивными генами группы *d*, которых известно более 50. Полукарликовость контролируется геном *sd*. Анализ взаимосвязей признаков показал, что метелки максимальной длины формируются у высокорослых позднеспелых растений, а самые короткие у поздних карликов. Длина метелок изученных коллекционных образцов варьировала от 8 до 24 см. На длину метелки влияет 8 генов: *P<sub>1</sub>*, *D<sub>1</sub>*, *P<sub>2</sub>*, *P<sub>4</sub>*, *G<sub>1</sub>*, *P<sub>3</sub>*, *Ka*, *P<sub>5</sub>*. Количество колосков в метелке – один из главных элементов продуктивности риса – варьировало от 20 до 340. Ген *C* контролирует увеличение числа веточек и колосков в метелке. Анализ регрессионной зависимости числа колосков на метелке от продолжительности вегетационного периода показал, что она криволинейная. С увеличением вегетационного периода до 85 дней среднее число колосков на метелке растет, а после 90 дней – снижается. Выделены источники количественных признаков, увеличивающих продуктивность растений. Наибольшую ценность представляют образцы с количеством колосков на метелке 150-200: Амбарбу (Иран), Rever (США), IRAT 133 (Заир), Юпитер. Масса 1000 зерен образцов варьировала от 15 до 60 г. Выделены источники крупнозерности (ген *Lk-f*). Имеются также доноры генов устойчивости риса к засолению почвы (*Saltol*), затоплению водой (*Sub 1*), пирикулярриозу (*Pi*), бактериозу (*Xa*). На основе этого исследования проводится целенаправленное использование исходного материала для селекции высокоурожайных сортов риса.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОМАКЛОНАЛЬНОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ В СЕЛЕКЦИИ НУТА (*CICER ARIETINUM L.*) ДЛЯ УСЛОВИЙ ОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Кузьмина С.П.<sup>1</sup>, Казыдуб Н.Г.<sup>1</sup>, Балачий В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Омский ГАУ, Россия, Омск, ул. Институтская площадь,

[sp.kuzmina@omgau.org](mailto:sp.kuzmina@omgau.org)

Мировой спрос на нут устойчиво возрастает. Мировой экспорт нута в 2016 году превысил отметку в 2 500 тыс. тонн. Для сравнения, в 2011 году он составлял 1 309,5 тыс. тонн, в 2006 году - всего 924,5 тыс. тонн. Роль РФ в мировом обеспечении нутом в последние годы значительно усилилась. Страна в настоящее время является вторым по объему (после Австралии) экспортером нута. Доля РФ в общем объеме экспорта по итогам 2016 года оценивается почти в 10,0%. Для сравнения, в 2011 году она составляла 7,6%, в 2006 году - 1,3%, что свидетельствует о существенном росте конкурентоспособности российского нута на мировых рынках. В регионах подверженных периодическому влиянию засухи (в том числе и югу Омской области) по биологическим особенностям нут является перспективной культурой. Расширение генетической базы отбора в современной селекции может быть обеспечено за счет использования методов индуцированного мутагенеза и биотехнологии. Так, соматическая изменчивость, представляющая собой результат спонтанного мутагенеза в культуре тканей *in vitro*, показала ряд преимуществ: возможность восстановления генетического базиса селекции древних культурных видов с обедненным генофондом за счет использования широкого спектра вариаций хозяйственных признаков; низкая частота встречаемости в половых потомствах летальных и вредных мутаций, снижающих жизнеспособность растений; появление в процессе рекуррентной регенерации особо ценных форм с высоким уровнем онтогенетической адаптации и неспецифической устойчивостью к повреждающим факторам среды, что открывает возможность целенаправленного создания селекционного материала с повышенной экологической стабильностью, устойчивого к болезням и вредителям. Результаты комплексной оценки 42 соматических линий нута, полученных из Сибирского НИИ кормов (г. Новосибирск) в течение 7 лет (2012-2018 гг.) в Омском ГАУ позволили выделить образцы, характеризующиеся ценными признаками и свойствами: повышенной урожайностью и адаптивностью к сложным условиям региона, укороченным вегетационным периодом, технологичностью при механизированном возделывании, высоким содержанием белка и микроэлементов, высокой симбиотической активностью. В качестве источников в селекции нута для условий Омской области рекомендуется использовать образцы соматических клонов: С4-Deemin, С7-Александрит, С14-Александрит, С15-Волгоградский 10.

## ВЛИЯНИЕ ФИТОТОКСИНОВ НА РАЗВИТИЕ ПРОРОСТКОВ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ НА НАЧАЛЬНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Кулинкович Е.Н., Ермоленко Н.Л., Кадырова М.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>РУП НПЦ НАН Беларуси по земледелию, Республика Беларусь, г.Жодино, ул. Тимирязева, 1  
[enkulinkovich@mail.ru](mailto:enkulinkovich@mail.ru)

Несмотря на современный широкий спектр средств защиты растений, предлагаемых к использованию в промышленном земледелии, все острее встает вопрос защиты окружающей среды и получаемой продукции от пестицидов и продуктов их разложения. Основным путем решения данной проблемы остается повышение устойчивости районированных сортов зерновых культур к грибным патогенам. Индивидуальный отбор, проводимый в культуре *in vitro*, с использованием микотоксинов для создания селективных сред позволяет ускорить данный процесс, нивелировать влияние факторов внешней среды на результаты опытов, предотвратить распространение агрессивных штаммов патогенов в сельскохозяйственных посевах.

Для изучения и отбора устойчивых форм в нашей работе использовался фильтрат культуральной жидкости (ФКЖ) *Fusarium culmorum*, содержащий микотоксины в концентрациях 10, 20 и 30% от объема питательной среды. Изучалась культуральная жидкость, полученная при культивации штамма *F.culmorum* в течение 14-ти и 21 дней, поскольку от количества дней культивации будет зависеть и концентрация микотоксинов в растворе и, следовательно ее токсическое действие на зародыши пшеницы.

Для усовершенствования методики отбора устойчивых к фузариозу колоса генотипов были высеяны сортообразцы, контрастные по данному признаку в условиях Беларуси. Изучение влияния ФКЖ и определение эффективных концентраций культуральной жидкости для селективного отбора проводили на незрелых зародышах яровой и озимой пшеницы. Это сорта Любава, Рассвет, Luvett, RII-175, SV5943, IMFHB 2, IMFHB 5, IMFHB 7, IMFHB 8. Использовались модификации среды МС для эмбриокультуры зародышей и для индукции каллусогенеза.

Анализ полученных результатов показал значительное угнетение как развития зародышей, так и процессов каллусогенеза на всех селективных средах по сравнению с контролем. Вместе с тем, при сравнении данных о развитии проростков на селективных средах с различными концентрациями между собой, было отмечено снижение общего количества выживших эксплантов, по мере увеличения концентрации микотоксинов. Однако в отношении размеров проростков и каллусов наблюдалась обратная тенденция – увеличение размеров при повышении концентрации в диапазоне 10-20% (1,2-1,83см) и снижение в диапазоне 20-30%(1,83-1,75см). По нашим предположениям, такой стимулирующий эффект в первом случае вызывается дополнительной дозой гормонов роста, полученной с культуральной жидкостью. По мере повышения концентрации тотоксинов стимулирующий эффект постепенно нивелируется.

## ПОИСК МИШЕНЕЙ TAL-ЭФФЕКТОРОВ XANTHOMONAS CAMPESTRIS PV. CAMPESTRIS В ГЕНОМЕ BRASSICA OLERACEA

Лебедева М.В., Злобин Н.Е.

ФГБНУ Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Сельскохозяйственной Биотехнологии, Россия, Москва, ул. Тимирязевская, 42, 127550

[marilistik@mail.ru](mailto:marilistik@mail.ru)

*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc) вызывает сосудистый бактериоз на различных культурных растениях семейства *Brassicaceae*. Для подавления защитной реакции растений Xcc использует различные белки-эффекторы, наиболее крупной группой которых являются так называемые TAL-эффекторы, TALE (Transcription Activator-Like Effector) [1]. Эти белки связываются с промоторными областями некоторых растительных генов, активируя их транскрипцию. Продукты этих генов вовлечены в нормальные процессы роста и функционирования растительной клетки, однако их активация при проникновении патогена вызывает ослабление защитного ответа клетки. Узнавание нуклеотидных последовательностей определяется строением центральной части белка TALE, которая состоит из повторов длиной 33-35 аминокислот. Каждый повтор связывается с одним нуклеотидом, количество повторов может быть 30 и более. Какой именно нуклеотид связывает данный повтор, определяется переменными аминокислотными остатками в положениях 12 и 13 каждого из повторов. Таким образом, структура и порядок расположения повторов определяет, с какой последовательностью ДНК будет связываться данный TALE. Изменение нуклеотидных последовательностей мишеней TALE в промоторах позволяет создавать устойчивые растения [2].

Нами было исследовано наличие генов TALE в различных изолятах Xcc рас 0,1,3,4, наиболее распространённых в РФ. Гены, кодирующие TALE, были обнаружены только среди представителей 0 и 4 рас. Амплификация и секвенирование генов TALE затрудняются их длиной (3-4 т.п.о.), высоким GC-процентом и наличием повторов в центральной части. Поэтому была разработана методика амплификации генов TALE с геномной ДНК Xcc без образования дополнительных продуктов. Амплифицированные последовательности были отсеквенированы с помощью прибора MinION, позволяющего получать длинные прочтения. Эти данные использованы для поиска вероятных мишеней TALE в геноме *Brassica oleracea*.

Работа поддержана грантом РФФИ 18-316-00134 мол\_a

1) Boch J., Bonas U. *Xanthomonas* AvrBs3 Family-Type III Effectors: Discovery and Function // 2010 Annu Rev of Phytopathol 48:419-436

2) Peng A., et.al. Engineering canker-resistant plants through CRISPR/Cas9-targeted editing of the susceptibility gene CsLOB1 promoter in citrus // 2017 Plant Biotechnol J 15(12): 1509-19

## ВЛИЯНИЕ ЯДЕРНОГО ГЕНОМА НА ТРАНСКРИПЦИЮ ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА *HELIANTHUS ANNUUS*

Маркин Н.В., Колоколова Н.С., Ковалевич А.А., Кан К.Ф., Хачумов В.А., Макаренко М.С., Усатов А.В.

Академия биологии и биотехнологии Южного федерального университета, 344090, Россия, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1

[nmarkin@mail.ru](mailto:nmarkin@mail.ru)

Исследование ядерно-пластидных взаимодействий может быть успешным только при наличии подходящей генетической модели. С помощью реципрокных и насыщающих скрещиваний между культурными линиями (инбредная линия 3629 и полученный на ее основе пластомный мутант *en:chlorina-7*) и линией дикорастущей формы (Д.ф.) подсолнечника была получена серия гибридов. При использовании 52 SSR маркеров ядерной ДНК было установлено, что полное замещение ядерного генома как культурной, так и дикой формы подсолнечника происходит в результате 7-ми беккроссов ( $BC_7$ ). Гибриды  $BC_7$  (Д.ф. $\times$ 3629) и  $BC_7$  (Д.ф. $\times en:chlorina-7$ ) совмещали ядерный геном культурной формы и цитоплазм дикой формы, тогда как реципрокные гибриды  $BC_7$  (3629 $\times$ Д.ф.) и  $BC_7$  (*en:chlorina-7* $\times$ Д.ф.) имели обратное совмещение.

РНК выделяли из листовой ткани на стадии 3-4 пары листьев растений подсолнечника выращенных в климатической камере KBWF720 (Binder, Германия) с использованием набора реагентов Extract RNA (Евроген, Россия). После обратной транскрипции и Real-Time PCR анализировали относительный уровень транскрипционной активности четырех хлоропластных генов: *psbA*, *psaA*, *rbcL*, *ycf2*.

У гибридов  $BC_7$  (Д.ф. $\times$ 3629) и  $BC_7$  (Д.ф. $\times en:chlorina-7$ ), у которых заменена ядерная ДНК дикорастущей формы на ДНК культурных форм, транскрипционная активность хлоропластных генов *psbA* и *rbcL* незначительно увеличилась, *psaA*- уменьшилась в 1,5 раза, а гена *ycf2* - не изменилась по отношению к родительской материнской линии. У реципрокных гибридов с нормальным цитоплазмом  $BC_7$  (3629 $\times$ Д.ф.) замена ядерной ДНК приводила к увеличению уровня транскрипционной активности только одного гена *psbA* в 2,6 раза, тогда как у гибрида с мутантным цитоплазмом  $BC_7$  (*en:chlorina-7* $\times$ Д.ф.) транскрипционная активность росла у всех четырех генов *psbA*, *psaA*, *rbcL*, *ycf2*.

Таким образом, можно предположить, что замена ядерной ДНК приводит к перестройке функциональной организации всего пластомы, поскольку соотношение между уровнями экспрессии пластидных генов становится иным. Вместе с тем, активность каждого из хлоропластных генов зависит от состояния других пластидных генов, о чем свидетельствует различия в степени выражения генов мутантного и нормального пластомы у гибридов  $BC_7$  (*en:chlorina-7* $\times$ Д.Ф.) и  $BC_7$  (3629 $\times$ Д.ф.).

Результаты получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России, проект № 6.929.2017/4.6, на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» Южного федерального университета.

## ГЕНОФОНД РЕСУРСОВ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР БЕЛАРУСИ И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИИ

Привалов Ф.И., Гриб С.И., Матыс И.С.

*РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»*

*Республика Беларусь, 222160 г. Жодино, ул. Тимирязева, 1*

*belgenbank@mail.ru*

Современная стратегия селекции зерновых культур в Беларуси, сохраняя приоритет повышения урожайности, направлена на создание системы адаптивных, взаимодополняющих сортов толерантных к биотическим и абиотическим стрессам, с хорошим качеством продукции. Академик Н.И. Вавилов образно и точно определил исходный материал краеугольным камнем селекции. Реализация стратегии и приоритетных направлений селекции зерновых культур в Научно-практическом центре НАН Беларуси по земледелию, базируется на сформированном, начиная с 2000 года, генофонде зерновых культур, в составе 8278 образцов белорусского и зарубежного происхождения; молекулярных методах идентификации и отбора генотипов, устойчивых к болезням, короткостебельных, с высоким качеством продукции; применении технологии получения удвоенных гаплоидов и др. Коллекция генетических ресурсов зерновых культур представлена 4004 образцами пшеницы, 1149 – ячменя, 1102 – тритикале, 896 – овса, 351 – ржи, включает 61 вид, 300 разновидностей из 96 стран мира. В результате исследований выделено 320 генетических источников хозяйственно-ценных признаков, сформировано 15 признаковых коллекций. Среди приоритетов селекции зерновых культур в Беларуси актуально создание спектра сортов целевого назначения для производства разнообразных специализированных видов продукции продовольственного, кормового и технического назначения, что требует формирования соответствующего исходного материала.

На основе использования генетических ресурсов зерновых культур за период 2000 – 2019 г.г. создано и включено в Государственный реестр Беларуси 109 сортов, которые занимают в посевах 80% площади и 25 сортов – в Российской Федерации. Республика Беларусь активно сотрудничает с многочисленными международными центрами сельскохозяйственных исследований, генными банками растительных ресурсов мира, селекционными центрами. Учитывая высокую значимость и ценность, коллекции семян генбанка ресурсов растений Беларуси получили статус научного объекта национального достояния. Белорусский опорный пункт ВИР за особые заслуги в деле их сохранения награжден Медалью академика Н.И. Вавилова.

Таким образом, сформированный генофонд зерновых культур, применение современных методов селекции, обмен генофондом и создание на этой основе системы адаптивных, взаимодополняющих сортов способствуют устойчивой продовольственной безопасности Республики Беларусь.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ СТРЕССА В КУЛЬТУРЕ *in vitro* И ОТБОР УСТОЙЧИВЫХ РАСТЕНИЙ БЕРЕЗЫ, ТОПОЛЯ И ОСИНЫ

Табакцкая Т.М.<sup>1</sup>, Аминева Е.Ю.<sup>1</sup>, Машкина О.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», Россия, Воронеж, 394087 ул. Ломоносова, д. 105;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Россия, Воронеж, 394018 Университетская площадь, 1  
[mashkinaos@mail.ru](mailto:mashkinaos@mail.ru)

Создание биотехнологических тест-систем *in vitro* на основе моделирования стрессовых условий – одно из перспективных направлений современной селекции древесных растений на устойчивость. Это подтверждается неоспоримыми преимуществами данных систем: независимость от вегетационного периода, высокая степень контроля, простота провокационного фона, экологическая безопасность методов. Опыт использования селективных систем *in vitro* для лесообразующих пород небольшой и носит, в основном, поисковый характер. Выбор березы, тополя и осины в качестве объектов определен их большим генетическим разнообразием (виды, гибриды, полиплоиды), лесообразующим статусом, экологическим и экономическим значением.

Нами был предложен алгоритм формирования биотест-модели *in vitro* для дифференциации и отбора устойчивых растений в условиях искусственного засоления питательных сред NaCl, что позволяет моделировать не только солевой, но и осмотический стресс. В качестве тест-объектов использовали растительные экспланты *in vitro* в виде одноузловых стеблевых сегментов микрорастений березы повислой, карельской, далекарлийской и пушистой, тополя белого и осины. Схема поэтапного солевого воздействия включала малые (0,2%), сублетальные (0,5-0,75%) и летальные (1,0%) концентрации NaCl. Тест-функции определялись ответными реакциями микрочеренков на действие заданного стресса. Выявлены наиболее значимые – сохранность культур и реализация морфогенного потенциала.

Воздействие малыми (0,2%) дозами NaCl показало отсутствие видимого поражения экспериментальных образцов при ярком усилении межклоновых ростовых различий. Это позволило дифференцировать клоны по степени относительной устойчивости. С увеличением содержания NaCl (0,5%; 0,75%; 1,0%) в питательной среде симптомы её токсичности увеличивались. Экспериментальный материал уклонялся от «нормы», демонстрируя и внутриклоновые различия по степени чувствительности к солевому стрессу, что обеспечило повторный отбор наиболее устойчивых культур. Так, сохранность различных клонов березы в условиях 0,75% засоления варьировала в пределах 20-60%, тополя – 50-56%, осины – 41-61%. Отобранные линии были успешно рекультивированы в условиях летального (1,0%) засоления с сохранением их регенерационных возможностей.

Выявленные различия по степени чувствительности клонов березы и тополя к солевому стрессу позволяют предположить возможность направленной селекции в условиях *in vitro* на повышение их устойчивости.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФАКТОРОВ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА НА МОРФОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

Милехин А.В., Бакунов А.Л., Рубцов С.Л.

ФГБНУ «Самарский НИИСХ», Россия, г. Безенчук, ул. Карла Маркса, д. 41

[alekseimilehin@mail.ru](mailto:alekseimilehin@mail.ru)

Важным методом получения ценного генетического материала является мутагенез. Он повышает частоту изменчивости признаков растений и расширяет возможности селекционера для отбора хозяйственно-ценных форм. Из числа физических мутагенов наиболее сильное воздействие оказывает космическое излучение, что рассматривает его как перспективный способ расширения генотипической вариабельности и получения новые генетические конструкции.

Изучено влияние факторов космического полёта (ФКП) на морфобиологические параметры меристемных растений картофеля сортов Жигулевский и Безенчукский, полученных из миниклубней, подвергшихся воздействию ФКП на космическом аппарате «Фотон-М» №4.

Установлено достоверное снижение средней длины меристемных растений у регенерантов, полученных из клубней, подвергшихся действию ФКП. В контрольном варианте средняя длина растений составила 9,08 см, в варианте ГИПО этот показатель составлял 8,37 см, а в варианте НЭ – 8,19 см. Между вариантами опыта достоверных различий по этому показателю не выявлено. Следует отметить, что микрорастения сорта Жигулевский, полученные из клубней в варианте ГИПО, не имели достоверного снижения длины в сравнении с контрольным вариантом. Вариабельность длины меристемных растений была преимущественно обусловлена генотипическими факторами. Вклад генотипа в варьирование длины растения составил 83,3%, на фактор изменения условий среды приходилось 13,8%, а на взаимодействие факторов генотипа и среды лишь 2,9% от общего варьирования признака.

При анализе количества междоузлий на одно растение установлено достоверное снижение этого показателя у регенерантов, полученных из клубней, подвергшихся действию ФКП. Так, среднее количество междоузлий на одно растение составило 6,05 шт. в контрольном варианте и 5,13 шт. в вариантах ГИПО и НЭ. Анализ воздействия генотипа, условий культивирования и их взаимодействия на варьирование количества междоузлий показал практически равный вклад генотипа и средовых воздействий. Вклад генотипа в изменчивость признака составил 49,9%, а факторы космического полета обусловили 49,1% общего варьирования признака. При этом достоверного взаимодействия генотипа и среды не выявлено, на него приходился лишь 1% варьирования.

ФКП привели к достоверному снижению длины корневой системы у полученных регенерантов. Средняя длина корневой системы на одном растении составила в контрольном варианте 4,95 см, в варианте ГИПО – 4,17 см, а в варианте НЭ – 4,25 см. При этом достоверных различий между вариантами опыта по этому показателю не выявлено.

## ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ ВИНОГРАДА, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ РАЗЛИЧНОМ СВЕТОДИОДНОМ ОСВЕЩЕНИИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* И *EX VITRO*

Никонович Т.В.<sup>1</sup> Колмаков П.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, Республика Беларусь, Горки, Могилевская область, г. Горки, улица Мичурина, 5;

<sup>2</sup>Витебский государственный университет имени П.М. Машерова  
[tvnikonovich@gmail.com](mailto:tvnikonovich@gmail.com)

Впервые в Беларуси проведена оценка генетической однородности растений винограда *in vitro* и *ex vitro* молекулярно-генетическими методами при различном светодиодном освещении. Целью работы являлось выявление генетического полиморфизма сортов винограда, используя генетические методы исследований. Научная идея (гипотеза) состоит в изучении степени генетического полиморфизма растений-регенерантов винограда сортов Маршал Фош и Маркетт, культивируемых при моно- и смешанных спектрах светодиодного освещения. Проведены молекулярно-генетические исследования с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) и неканонических праймеров из группы ОРА.

Генетический анализ растений-регенерантов *in vitro*, полученных при различных сочетаниях спектров света, показал полиморфизм сорта Маршал Фош (выявлено две генетические разновидности). Сорт Маркетт генетически однороден. Оценка паттернов указывает на две ситуации, которые следует охарактеризовать как «все или ничего». При четких паттернах праймер хорошо садился на сайты узнавания. Во втором случае праймер таких участков не находил. Это объясняется тем, что при некоторых вариантах освещения происходит «выключение» определенных участков геномной ДНК: сайты узнавания попадали на такие участки и, поэтому реакция амплификации отсутствовала. Если бы сложившаяся ситуация зависела от наличия в биоматериале полифенольных соединений, тормозивших реакцию амплификации, то существовали бы «переходные» формы по яркости паттернов в ультрафиолетовом свете, но такие формы отсутствовали. Следовательно, кардинальных изменений в геноме у растений-регенерантов винограда не происходит, имеется «выключение» отдельных участков ДНК при определенных сочетаниях спектров света. Генетический анализ растений *ex vitro* показал расположение полос в паттернах такое же, как и при анализе растений-регенерантов *in vitro*. Сорт Маркетт также является генетически однородным, сорт Маршал Фош имеет две генетические разновидности. Анализ образцов винограда *ex vitro* выявил паттерны с меньшей интенсивностью свечения полос, что указывает на существование инсерции. Объем тотальной ДНК в образцах винограда *ex vitro* на треть меньше, чем культивируемых *in vitro*.

Таким образом, доказана эффективность использования методики RAPD маркирования.

**Благодарности:** работа выполнена при поддержке ФФИ Беларуси в рамках проекта № Б 17-155: «Оценка морфогенеза и функционального состояния ферментов RedOx-системы винограда в культуре *in vitro* и *ex vitro* при различном светодиодном освещении».

## ИСТОЧНИКИ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ В СЕЛЕКЦИИ ТРИТИКАЛЕ НЦЗ ИМ.П.П. ЛУКЪЯНЕНКО.

Ковтуненко В.Я., Панченко В.В., Калмыш А.П.

ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», Российская Федерация, г. Краснодар, г. Краснодар-12, ц/у КНИИСХ,  
[wheat@mail.ru](mailto:wheat@mail.ru)

Одной из составных частей нашей селекционной программы по тритикале является широкое использование коллекционного материала ВИР им. Н.И. Вавилова, а также путём обмена с научными учреждениями России и зарубежья, выявление среди них источников хозяйственно ценных признаков. С 1975 года изучено 2451 образцов: озимой тритикале – 1497, яровой – 762, озимой ржи – 192. Выделены и вовлечены в селекционную работу наиболее эффективные источники основных признаков из России, Украины, Белоруссии, Польши, Чехии, Франции, Японии, Мексики, Аргентины, Чили:

-зерновой продуктивности и выполненности зерновки: Реалист, Визерунок, АДП-2, Утро, Presto, Fredro, Moderato, Tulus, Tarzan, Консул, Зимогор, Ацтек, Атаман Платов, Тихон, Венец, Сват, яровые Дуплет, Кунак, Ярик, Браво, Полесье, Ровня;

-высокой морозостойкости: Цекад 90, Шанс, Зимогор, Алмаз, Атаман Платов, Мудрец, Авангард, Князь, Берекет, Уллубий, АДП -2;

-короткостебельности: АД-60, Хонгор, К-119, ПРАГ-530, ПРАГ-538, СД 3295, Ярило, Аякс, Grenado, Тихон, Пилигрим, Тит, рожь Альфа полукарликовая;

-скороспелости: Перун, АД-60, Каприз, ПРАГ7, Благодатный, Утро, Color, Triskel, Орлик, Сват, Венец, Тихон, рожь-двуручка Naruichiban; яровые тритикале Ryekko, Fahad 5, Ярило;

-урожайности зелёной массы: Простор, Одесский кормовой, Аграф, Торнадо, Don Frank, Хот;

-устойчивости к бурой ржавчине: ПРАГ 530, ПРАГ 520, Ника 5, Регион, Консул, Краковяк, Топаз; Triticale L-1, Мамучар, Moderato, Валентин 90, Сват, Венец, SGU-88/91, АДМ-14, Гармония, Амур, Визерунок, Ярило;

-высоких хлебопекарных свойств: Валентин 90, Цекад 90, Тит, яровые Хлебодар харьковский, Каравай харьковский, МХ-66 [1].

Применяемая нами схема селекции позволила создать сорок один сорт озимого и шесть сортов ярового тритикале. Озимые сорта Тихон, Берекет, Трудяга, Уллубий, Инал, Уралан, Венец, Слон, Илия и яровые Савва и Тимур в настоящее время проходят государственное испытание.

[1]. Ковтуненко В.Я., Достижения и направления селекции тритикале в ГНУ им. П.П. Лукьяненко / Ковтуненко В.Я., Панченко В.В., Калмыш А.П., Тимофеев В.Б., Дудка Л.Ф. // В сборнике: 100 лет на службе АПК: традиции, достижения, инновации ГНУ Краснодарский НИИСХ имени П.П. Лукьяненко,. Краснодар, 2014. С. 80-94.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИКРОГАМЕТОФИТНОГО ОТБОРА В СЕЛЕКЦИИ ТОМАТА *SOLANUM LICOPERSICUM* L. НА СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ

Пугачёва И. Г.<sup>1</sup>, Зайцева И. Е.<sup>1</sup>, Лещина Н. Ю.<sup>1</sup>, Кильчевский А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, Беларусь, Горки, ул. Мичурина, 5. <sup>2</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, ул. Академическая 27.

[puhachova.irina@gmail.com](mailto:puhachova.irina@gmail.com)

Гаметофитный отбор в качестве метода селекции предложен D. Mulcahy в 1979 году. Автор высказал мысль, что отбор микрогаметофитов, устойчивых к какому-либо экстремальному фактору, может обеспечить появление спорофитов с аналогичной устойчивостью. Важный вклад в развитие гаметной и зиготной селекции внесен школой академика А.А. Жученко в Молдавии (А.Н. Кравченко, В.А. Лях, Н.Н. Балашова и др.).

Сочетание методов гаметной, классической и маркер-ассоциированной селекции для создания новых сортов и гибридов растений представляет научный интерес коллектива исследователей Белорусской государственной сельскохозяйственной академии и Института генетики и цитологии НАН Беларуси.

В результате разработана методика отбора микрогаметофитов томата, устойчивых к действию низких положительных температур, которая позволяет повысить холодостойкость спорофита (проростков), при этом возрастает процент прорастания семян (на 28-50 %) и ускоряется начало их прорастания при 10-12°C (на два дня).

Предложена схема гаметофитно-спорофитного отбора в сочетании с индивидуальным отбором по продуктивности, что способствует повышению устойчивости пыльцы и проростков к низким температурам, увеличению общей урожайности на 5,9-56,6 %.

Установлено влияние однократного и двукратного микрогаметофитного отбора по холодостойкости на повышение устойчивости популяций F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> гибридных комбинаций к низким положительным температурам; на формирование устойчивости спорофита к фузариозу и кладоспориозу; на распределение частот аллелей генов устойчивости к фузариозному увяданию и кладоспориозу. Прослеживается положительная тенденция к повышению устойчивости к фузариозному увяданию и кладоспориозу у томата под влиянием пыльцевого отбора по холодостойкости. Предполагается существование общих механизмов устойчивости к абиотическим (низкой температуре) и биотическим (устойчивость к фузариозу и кладоспориозу) стрессорам.

В результате вовлечения в гибридизацию холодостойких образцов получены гибриды F<sub>1</sub> Горецкий и Мазурка, товарный урожай которых превышал значения стандарта на 70-239 ц/га (25,4-130,6 %). Создан и районирован в Республике Беларусь гибрид томата F<sub>1</sub> Адапт, сочетающий холодостойкость на уровне спорофита и гаметофита с высокой урожайностью.

## ИННОВАЦИОННЫЙ МОДУЛЬ ПО ПРОИЗВОДСТВУ СЕМЯН КАРТОФЕЛЯ

Рубцов С.Л.

ФГБНУ «Самарский НИИСХ», Россия, г. Безенчук, ул. Карла Маркса, д. 41

[alekseimilehin@mail.ru](mailto:alekseimilehin@mail.ru)

На основе многолетних исследований коллектива ФГБНУ «Самарский НИИСХ», разработанной конструкторской документации был создан модуль по производству безвирусного семенного картофеля категории «семена оригинальные».

Разработанный модуль соответствует биологическим требованиям, предъявляемым для выращивания картофеля, и позволяет осуществлять сбор клубней, достигших кондиционных размеров, в течение всего периода клубнеобразования.

Установка по выращиванию семенного картофеля состоит из следующих технических и технологических узлов: облегченного каркаса-опоры для крепления культивационного модуля; резервуара для культивирования растений картофеля; блока освещения растений; системы подачи питательного раствора; системы контроля условий культивирования растений.

Установка оснащена уникальной системой подачи питательного раствора в корневую зону растений, связанной с использованием распылителей низкого давления (кругового распыла), что позволяет исключить из технологической схемы систему тонкой очистки питательного раствора, а также использовать в качестве питания растворы, имеющие органический осадок. Использование форсунок с низким давлением позволяет использовать в качестве источника питания жидкие отходы животноводческих ферм и продукты их переработки.

Полезная модель оборудована современной системой освещения, характеризующейся комбинацией светодиодных источников света различного спектрального состава, что создает более оптимальные условия для роста и развития картофеля, формируя максимальную имитацию естественных природных условий выращивания, а также сокращает энергопотребление биотехнологической установки и удешевляет себестоимость производимой продукции.

Культивационный лоток изготовлен из облегченного химически устойчивого пластика, что исключает возможность коррозии. Лоток по продольным сторонам имеет по одной форточке, что обеспечивает оператору беспрепятственный доступ к сформированным мини-клубням и не допускает травмирования корневой системы растений картофеля. Высота лотка не менее 70 см., что положительно сказывается на свободном росте и развитии корневой системы, а также исключает её взаимодействие и срастание с соседними растениями.

Установка изготовлена в модульном исполнении для быстрого и без особых финансовых и трудовых затрат сборки и функционирования в любом по площади нежилом, техническом помещении.

## ТОПОЛЬ СЕРЕЮЩИЙ (*Populus canescens* Sm.) – МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ГЕНЕТИКО-СЕЛЕКЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ ДЛЯ ПРОРЫВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Сиволапов А.И.

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова» Россия, г. Воронеж ул. Тимирязева, 8  
[Aleksey-Sivolapov@yandex.ru](mailto:Aleksey-Sivolapov@yandex.ru)

На тополе (*Populus canescens* Sm.) апробированы все методы и направления исследований лесной селекции. Крупное открытие в селекционном лесоводстве сделано в 1976 году: в пойме реки Хопер выявлен спонтанно-гибридогенный вид – крупнолистная аллотриплоидная форма тополя сереющего, в пойме Дона – исполинская форма. На отобранных объектах - клоновых микропопуляций спонтанного гибрида тополь белый × осина в поймах рек Хопра и Дона апробированы все применяемые на древесных растениях методы генетики и селекции:

- закладка пробных площадей, отбор плюсовых насаждений тополя сереющего;
  - отбор плюсовых деревьев;
  - на срезанных ветвях плюсовых деревьев тополя сереющего проведены цитоэмбриологические исследования. Определение числа хромосом в соматических клетках меристемы листьев показало, что преобладают клетки с тройным набором хромосом. Однако наблюдается онтогенетическая изменчивость кариотипов растений с измененными числами хромосом. Через 20 лет по той же методике повторно проведен подсчет чисел хромосом в листьях побегов материнских деревьев и их вегетативного потомства. У тополя сереющего исполинской формы число триплоидных клеток в листьях сократилось до 8%. Крупнолистная форма отличается крупными листьями, до 13 см в поперечнике листовой пластинки, на длинных (до 10 см) черешках. Среди них обнаружена триплоидная форма (число триплоидных клеток 74%), отобранная в Хоперском заповеднике. Отмечена высокая экологическая лабильность тополя, т.е. этот тополь показывает хороший рост в широкой амплитуде экологических условий: приспосабливается и произрастает в определенных условиях среды за счет изменения числа клеток с триплоидным набором хромосом, клон женский, семена стерильны, однако метод культуры тканей способствует сохранению жизнеспособности и разнообразия потомства триплоидного тополя по морфологии и числу хромосом (т.е. сохранению различных типов геномных мутантов);
  - отобраны и размножены путем микроклонирования аллотриплоидные гетерозисные формы, выполнена ДНК-паспортизация, оформлены как сорта Тополь Хоперский 1 и тополь Приярский, отличающиеся высокой продуктивностью в культурах, устойчивостью. Древесина имеет высокую плотность и длинное древесинное волокно.
- Таким образом, первые сорта тополя сереющего могут служить для прорывных технологий в защитном лесоразведении.

## ИНДУКЦИЯ КРОССИНГОВЕРА У МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ТОМАТОВ

Стрельникова С.Р., Комахин Р.А.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии”, Россия, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, д. 42

[recombination@iab.ac.ru](mailto:recombination@iab.ac.ru)

Дикорастущие виды томатов скрещиваются с культурным томатом *S. lycopersicum* и могут быть донорами нового аллельного разнообразия. Нами установлено, что общая частота хиазм в материнских клетках пыльцы растений *S. lycopersicum* и дикорастущих томатов *S. pimpinellifolium*, *S. peruvianum*, *S. habrochaites*, *S. neorickii* является стабильным показателем рекомбинационного потенциала, но достоверно различается между видами. Распределение между дистальными и интерстициальными хиазмами видоспецифично и зависит от условий произрастания растений [1].

У значительного числа межвидовых гибридов томатов не обнаружено существенных нарушений синапсиса гомеологов и их сегрегации в мейозе. Однако отмечено подавление кроссинговера, необходимого для формирования в потомстве рекомбинантов с кроссоверными хромосомами, и негативные взаимодействия Добжанского-Мюллера между функционально несовместимыми локусами из разных видов, ограничивающие фертильность и приводящие к отклонениям в наследовании аллелей среди потомства.

У линейных гибридов культурного томата экспрессия гена бактериальной рекомбиназы *recA* *E. coli* в 1.5 раза повышала частоту мейотического кроссинговера между маркерными генами хромосомы 2 [2]. Эти результаты послужили основанием использовать этот подход для повышения кроссинговера между хромосомами разных видов томатов. Установлено, что у межвидовых гибридов томатов обнаружены негативные взаимодействия между локусами культурного томата и видов *S. cheesmaniae*, *S. pimpinellifolium* и *S. habrochaites*. Экспрессия гена *recA* у гибридов с *S. cheesmaniae* частично компенсирует среди потомства F<sub>2</sub> дефицит рецессивных генотипов в локусе *Wv:wv* хромосомы 2. В целом кроссоверных генотипов в потомстве F<sub>2</sub> было больше у межвидовых трансгенных гибридов, экспрессирующих ген *recA*, чем у нетрансгенных гибридов аналогичной комбинации скрещивания, однако меньше, чем у линейных гибридов *S. lycopersicum* [3].

Работа выполнена при поддержке государственного задания № 0574-2015-0005 (государственная регистрация № АААА-А17-117082950008-7).

Список литературы

- [1] Стрельникова С.Р. и др., Изменчивость частоты хиазм у различных видов томатов. // 2019, Цитология, Т.61, №2.
- [2] Комахин Р.А. и др., Анализ частоты мейотической рекомбинации у трансгенных гибридов томата, экспрессирующих гены *recA* и *NLS-recA-licBM3*. // 2012, Генетика, Т.48, №1, с.30-39.
- [3] Комахин Р.А. и др., Наследование маркерных генов в потомстве межвидовых гибридов томатов, экспрессирующих ген *recA* *Escherichia coli*. // 2019, Генетика, Т. 55, № 4.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ВОЗДЕЛЫВАЕМЫХ В БЕЛАРУСИ СОРТОВ ОВСА ПОСЕВНОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ SSR-МАРКЕРОВ

Сычева Е.А., Дробот Н.И., Дубовец Н.И.

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Республика Беларусь,*

*220027, г. Минск, ул. Академическая, 27,*

*E.Sycheva@igc.by*

Эффективность работы по созданию новых сортов любой культуры во многом определяется знанием генетической изменчивости включенного в селекционный процесс материала. Для её идентификации используются различные методы, однако на сегодняшний день наибольшее применение получили методы молекулярно-генетического анализа, позволяющие оценивать полиморфизм на уровне ДНК, причем наиболее информативными для этих целей считаются микросателлитные маркеры.

Нами была проведена оценка генетического разнообразия возделываемых в Республике Беларусь сортов *Avena sativa* L. (8 сортов отечественной селекции: Дебют, Запавет, Золак, Лидия, Мирт, Страмец, Факс, Фристайл; 2 сорта иностранной селекции: Айвори (Германия) и Bingo (Польша)) с использованием 10 SSR-маркеров (AM1, AM3, AM4, AM5, AM7, AM14, AM15, AM22, AM53 и AM83), отобранных на основании анализа литературных данных. В анализ были включены также раннеспелые польские сорта Sprinter и Stoper и канадские сорта Goslin и Francis.

В общей сложности, в 10 исследованных SSR-локусах был выявлен 51 аллель, при этом их количество варьировало от 2 до 9 на локус. Наиболее полиморфными оказались локусы AM1, AM7 и AM22 – 7, 9 и 8 аллелей, соответственно. Следует, однако, отметить, что максимальное количество аллелей в данных локусах было характерно для иностранных сортов. Сорта отечественной селекции в локусе AM1 содержали лишь два аллеля, причем аллель 152 п.н. был отмечен только у сорта Лидия. Локус AM7 у белорусских сортов был представлен 6-ю аллелями, а AM22 – 4-мя. Отсутствием полиморфизма характеризовался локус AM53, который у всех проанализированных сортов содержал аллель 341 п.н. Мономорфным у иностранных сортов был также локус AM5 (131 п.н.), в то время среди белорусских сортов половина содержала аллель 131 п.н., а другая половина – 134 п.н. Из 36 аллелей, выявленных в целом у белорусских сортов, 11 не встречались в иностранных сортах, для которых, в свою очередь, индивидуальными были 15 аллелей из 40 идентифицированных.

По результатам исследований выявлены высокоинформативные маркеры AM3, AM7 и AM22 (PIC равен 0,88, 0,86 и 0,81, соответственно), которые рекомендуется использовать для дифференциации генетически близких генотипов овса.

## CHANGING OF MORPHOPHYSIOLOGICAL INDICATORS OF WHEAT VARIETIES DIFFERED BY MATURITY PERIOD IN DROUGHT CONDITIONS

Tamraz Hajiali oglu Tamrazov

*Research Institute of Crop Husbandry, Ministry of Agriculture of the Republic of Azerbaijan,  
Department of Plant Physiology and Biotechnology*

*tamraz.tamrazov@mail.ru*

Particular attention should be paid to physiological studies to increase resistance to drought and other stress factors of the wheat genotypes and identify sustainability mechanisms, on the other hand, to determine the physiological and genetic changes occurring in genotypes. The study of the effects of drought resistance on fertility measurements and the effect of fertility indicators on typical wheat investigated based on different soil and climatic conditions.

In the 2017-2018 academic year, 12 different wheat genotypes were measured in the Absheron Experimental Base of the Institute in three groups (fast, medium and late growing). As a result, two genotypes from each group were compared, including durum and soft. During the research, genotypes were determined by the speed of photosynthesis (Fi), transpiration speed (Ti), carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) in intercellular areas, and the American-made LI-6400 in upper layer leaves.

From the fast growing wheat genotypes Alinja-84 durum wheat genotype, both in the two versions, separately on the 8th and 7th layer leaves, Fi-12,5, 14,9 / 9,3-12,5 (mmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>), CO<sub>2</sub>g 332; 371/345; 385 (mmol CO<sub>2</sub> moll / 2) and finally Ti-value 4,9; 5,7 / 3,8; 3,2 (mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>), soft wheat genotypes of Gobustan-99 type Fi-14,1; 12,4 / 10,6; 11,8 (mmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>), CO<sub>2</sub>q-348; 365/364; 378 mmol of CO<sub>2</sub> moll / 2 and finally Ti-5,5; 6,1 / 4,8; 6,4 (mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>). At the flowering phase Fi-21,2; 18,6 / 20,9; 19,7 (mmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>), Ti-8,92; 8,43 / 7,63; 8,21 (mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>), compared to the previous measurements, the difference between the variants was significantly lower compared to those observed in the third measure.

From the mid matures durum wheat Vugar, both in the two versions, separately on the 8th and 7th leaves, Fi- 24%; 36,7%, bread wheat genotypes of Giymatli-2/17, Vugar durum wheat genotype CO<sub>2</sub> g 3,6; 2,6%, Giymatli-2/17 bread wheat 18,2; 14,2 % and finally Ti-value 3,6; 2,6 / 5,06; 0,68%.

From the late mature wheat genotypes the difference in the rate of photosynthesis according to the results of measurements in the genotype durum wheat Baraketli -95 and Tale-38 the bread wheat of the characteristic wheat was 7,8; 4,4% / 5,1%, 4,4%, CO<sub>2</sub> content in cells; 4,6%; 7,6% /4,2; 2,1%, the difference between the speed of transpiration and 25,6; 16,4 - 26,3 and 24,8% respectively.

From here, it can be concluded that there is a difference between durum and bread wheat genotypes, compared to the other varieties within the group. This is due to the fact that fast-growing genotypes complete their development before the severe drought occurs, which leads to a small difference in variants. On the other hand, the overlap between the variants in the late mature samples coincides with the prolongation of ripening period and occurrence of severe drought. This in turn ultimately leads to yield loss. In the future, it is important to pay attention to the fact that such genotypes should be taken as parental forms for creation of new varieties.

## СТРАТЕГИЯ СОЗДАНИЯ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ *IN VITRO* ДЛЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ АГРОБИОТЕХНОЛОГИЙ В СЕМЕНОВОДСТВЕ КАРТОФЕЛЯ

Ткаченко О.В.<sup>1</sup>, Каргаполова К.Ю.<sup>1</sup>, Евсеева Н.В.<sup>2</sup>, Бурьгин Г.Л.<sup>2</sup>, Матора Л.Ю.<sup>2</sup>, Щеголев С.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, Россия, Саратов, Театральная пл.,1; <sup>2</sup>ФГНУ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Россия, Саратов, просп. Энтузиастов, 13  
[oktkachenko@yandex.ru](mailto:oktkachenko@yandex.ru)

Агробиотехнологии оздоровления и ускоренного размножения растений в культуре *in vitro* активно применяются в системе семеноводства картофеля. Ризосферные ростстимулирующие бактерии (PGPR) могут быть использованы для повышения адаптационной способности и роста стерильных микрорастений, выращенных в культуре *in vitro*. В серии экспериментов было показано, что подбор эффективных штаммов может вестись как среди известных коллекционных штаммов ризосферных азотфиксирующих ростстимулирующих бактерий, так и среди природных ассоциантов картофеля.

Изучение 22 штаммов бактерий представителей родов *Azospirillum*, *Achromobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Ochrotrachum* и *Escherichia* из коллекции ИБФРМ РАН показало, что 7 из них не могут применяться для инокуляции микрорастений картофеля в условиях *in vitro*, так как вызывают контаминацию, а остальные способны оказывать влияние на рост побегов и корней в той или иной мере. Наибольший положительный эффект в культуре *in vitro* и в условиях *ex vitro* оказали 5 штаммов, относящихся к виду *A. brasilense*. Показано, что положительный эффект инокуляции связан с изменением гормонального баланса в растительно-микробной ассоциации.

Из корней растений двух сортов картофеля, выращенных в полевых условиях на темно-каштановых почвах Саратовской области, выделено и изучено 158 природных бактериальных изолятов. Были определены условия их селектирования на пригодность к созданию растительно-микробных ассоциаций в культуре *in vitro*. В итоге отобрано 5 перспективных природных изолятов, идентифицированных как *Ochrotrachum cytisi* IPA7.2 (= RCAM04481), *Ensifer adhaerens* T1Ks14 (= RCAM04487), *Kocuria rosea* T1Ks19 (= RCAM04488), *Acinetobacter guillouiae* K2Kn02 (= RCAM04485) и *Ochrotrachum* sp. T1Kr02 (= RCAM04486).

Отработаны методы инокуляции микрорастений: стадия роста, концентрация бактериальной суспензии, состав питательной среды. Показано, что ризосферные бактерии проникают в ткани растения, распространяются по нему и могут длительно сохраняться в процессе пассирования микрочеренков. На основании особенностей биологии и стимулирующего эффекта на растения различных штаммов начаты работы по изучению влияния бактериализации микрорастений картофеля в условиях *in vitro* одновременно двумя штаммами бактерий *Azospirillum brasilense* Sp245 и *Ochrotrachum cytisi* RCAM04481 в комплексе.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ 16-34-00720, 16-04-01444, 19-016-00116

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОЛНОГЕНОМНОГО АНАЛИЗА АССОЦИАЦИЙ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЛОКУСОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM TUBEROSUM* L. К ЗОЛОТИСТОЙ КАРТОФЕЛЬНОЙ НЕМАТОДЕ

Тоцкий И.В.<sup>1</sup>, Розанова И.В.<sup>1</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,2</sup>, Кочетов А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090, проспект академика Лаврентьева, дом 10;

<sup>2</sup> ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Россия, Санкт-Петербург, 190000, Санкт-Петербург, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, дом 42-44;

[totsky@bionet.nsc.ru](mailto:totsky@bionet.nsc.ru)

Картофель по производству и потреблению является одной из важнейших сельскохозяйственных культур в мире. Один из опаснейших карантинных вредителей - золотистая картофельная цистообразующая нематода (ЗКН) - способствует потере урожая (в местах сильного заражения свыше 70%) и снижению качества клубней. Для целенаправленного создания устойчивых сортов актуальной является разработка и использование в селекции новых ДНК-маркеров, ассоциированных с устойчивостью к ЗКН, в дополнение к уже известным диагностическим ДНК-маркерам.

Целью исследования является поиск локусов, ассоциированных с устойчивостью к *Globodera rostochiensis*, путем анализа сортообразцов картофеля *Solanum tuberosum* из коллекции ГенАгро ИЦиГ СО РАН, генотипированных с использованием ДНК-чипа Illumina 22K SNP potato array.

Создана выборка из 78 сортов *Solanum tuberosum*. 38 сортов были устойчивы к ЗКН, в то время как 40 сортов были восприимчивы. Данные по устойчивости сортов брали из базы данных Государственного реестра селекционных достижений, допущенных к использованию. Рассматривалась устойчивость только к патотипу Ro1. Обработка полученных данных проводилась с использованием следующих программ: Tassel 5, пакет R, Microsoft Excel. Для анализа данных использовали 4 статистические модели: GLM, GLM+Q, GLM+PCA, GLM+Q+PCA. Проведённое исследование показало наличие 18 значимых SNP на хромосомах 1, 5 и 11. Три обнаруженных SNP-маркера имели высокий уровень значимости при использовании каждой из четырёх статистических моделей. Проводится детальное изучение выявленных геномных районов.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 16-16-04073.

## СЕЛЕКЦИЯ ТОПОЛЯ ДЛЯ ЗАЩИТНОГО ЛЕСОРАЗВЕДЕНИЯ

Царева Р.П.

ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесной генетики, селекции и биотехнологии», Россия, 394087, г.Воронеж, ул. Ломоносова, 105

[tsarais42@mail.ru](mailto:tsarais42@mail.ru)

Целью настоящего исследования было выявление форм и гибридов тополей с повышенной энергией роста и устойчивостью для введения их в защитные лесные насаждения (ЗЛН). Исследования проводились на специально созданных сортоиспытательных участках в Тамбовской, Воронежской и Волгоградской областях на черноземных, каштановых и интразональных пойменных почвах. В испытание были включены белые, черные, бальзамические и межсекционные гибриды и клоны тополей.

Анализ сохранности, роста и продуктивности различных форм и гибридов, проведенный на сортоучастках Землянского, Давыдовского, Хохольского лесничеств и на Семилукском питомнике Воронежской области, Шехманском сортоучастке Тамбовской области и в Кумылженском лесничестве Волгоградской области, позволил выделить наиболее устойчивые клоны с высокой степенью сохранности и наиболее продуктивные с высоким запасом стволовой древесины.

Установлено, что из 80 клонов тополей, испытываемых на перечисленных выше объектах, хорошая сохранность (от 70 до 95%) даже после сурового засушливого 2010 года отмечена у представителей черных евро-американских культиваров (*Регенерата* № 78 и 79, *Брабантика-175* и *176*, *Мариландика-239*, *Каролинский-162*, *Робуста-236*, *Вернирубенс*, *Гельрика*, *Сакрау-59*, *Серотина* и др.). Допустимая сохранность (выше 70%) была также у некоторых бальзамических тополей (волосистоплодный и китайский) и у межсекционных гибридов отечественной селекции (гибрид *ЗБ*, *Пионер*, *Э.с.-38* №№ 44 и 94 и др.-оригинаторы А.М. Березин, А.С. Яблоков, М.М. Вересин).

К 40 летнему возрасту средняя высота у перспективных сортов и клонов на Семилукском популетуме варьировала от 30 до 37 м, диаметр - от 35 до 52 см, объем ствола – от 1,7 до 2,7 м<sup>3</sup>, запас древесины – от 400 до 1000 м<sup>3</sup>/га.

Из новых гибридов селекции ВНИИЛГИСбиотех лучшими по устойчивости и продуктивности оказались среди белых тополей высоко декоративные с серебристыми листьями, пирамидальной, колоновидной и раскидистой формой кроны сорта «*Ведуга*», «*Болид*» и «*Белар*»; среди черных – «*Степная Лада*», «*Бриз*» и «*Сюрприз*». Тополь «*Ведуга*» в Хохольской полезащитной лесной полосе в 34 года имел среднюю высоту 21,3 м, средний диаметр – 31,2 см, объем ствола 0.8 м<sup>3</sup>.

Отобранные устойчивые и высоко продуктивные формы тополей можно рекомендовать в защитные насаждения ЦЧР и сухо степные условия Волгоградской области.

## АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ В ПЛОДАХ ПЕРЦА И ЗЕРНЕ ПШЕНИЦЫ, ОБЛАДАЮЩИХ РАЗЛИЧНОЙ ПИГМЕНТАЦИЕЙ

Юдина Р.С., Захарова О.В., Гордеева Е.И.

*ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лавреньева, 10  
yurs@bionet.nsc.ru*

Основные пигменты, окрашивающие плоды и зерно, относятся к флавоноидным и каротиноидным соединениям. Первые шире всего представлены антоцианами, придающими розовую, голубую, фиолетовую (почти до черной) окраску и танинами, обеспечивающими красно-коричневый цвет семян. И те, и другие соединения являются мощными природными антиоксидантами и могут оказывать положительное влияние на здоровье. В настоящей работе проведена оценка антиоксидантной активности экстрактов плодов перца и зерна пшеницы (из коллекции ГенАгро ИЦиГ СО РАН), различающихся по окраске. Растения выращивались в теплице ИЦиГ СО РАН. Для получения информации о содержании фракции антиоксидантов, которые могут быть усвоены с пищей, экстракцию проводили с соответствующим моделированием условий: к 1 г измельченного образца добавляли 10 мл 1% водного раствора HCl и инкубации в течение часа при 37°C. Оценку антиоксидантной активности проводили с использованием анализатора антиоксидантной активности Близар (Интерлаб, Россия) согласно инструкции производителя. В качестве стандартного вещества использовали галловую кислоту (мг/л).

Среди 10 изученных сортов перца наиболее высокой антиоксидантной активностью обладали фиолетово-красные плоды, содержащие и антоцианы, и каротиноиды. Наиболее выделялся сорт Сибирский экспресс (содержание антиоксидантов составило 1,46 мкг/г (стандарт - галловая кислота). Далее следовали плоды, не содержащие антоцианов: на втором месте были красноплодные перцы (за исключением сорта Бегемот), на третьем – желтоплодные; наименьшим количеством антиоксидантов отличались зеленые плоды перца и сорт Бегемот. У пшеницы сравнивали зерно с окраской двух типов: (1) с проантоцианидиновой пигментацией оболочек зерна и неокрашенным перикарпом; (2) с проантоцианидиновой пигментацией оболочек зерна и перикарпом, окрашенным антоцианами. И то и другое зерно отличалось одинаково высоким уровнем антиоксидантной активности (содержание антиоксидантов в среднем составило 0,4-0,5 мкг/г). Таким образом, вклад антоцианов на фоне вклада других пигментов в антиоксидантную активность проявлялся у перца и пшеницы по-разному.

## Симпозиум XI: Мутации, рекомбинация, репарация / Symposium XI: Mutations, DNA repair and recombination

### ВЛИЯНИЕ МУТАЦИИ В ГЕНЕ *HIM1* НА ПЕРЕКЛЮЧЕНИЕ ПОЛИМЕРАЗ В ПРОЦЕССЕ ПОСТРЕПЛИКАТИВНОЙ РЕПАРАЦИИ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Алексеева Е.А., Федоров Д.В., Евстюхина Т.А., Пешехонов В.Т., Королев В.Г.

ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ), Россия, Гатчина, 188300, мкр. Орлова роща, д. 1

[alekseeva\\_ea@pnpi.nrcki.ru](mailto:alekseeva_ea@pnpi.nrcki.ru)

Эффективная и точная репарация ДНК является важным процессом для поддержания стабильности генома клетки. Активно делящиеся клетки в ответ на повреждения генома используют в первую очередь репарационные системы, которые удаляют повреждения ДНК во всех ее участках. Повреждения ДНК, которые остались неликвидированными перед входом в S-фазу клеточного цикла, представляют серьезную проблему в течение репликации, поэтому в процессе эволюции клетки выработали уникальную систему толерантности к повреждениям ДНК. Механизмы толерантности к повреждениям ДНК играют ключевую роль в организации завершения репликации поврежденной матричной цепи ДНК. Система толерантности к повреждениям ДНК эукариот называется пострепликативной репарацией (ППР). В нашей лаборатории было показано, что *HIM1* участвует в контроле ППР, и имеет отношение к стабилизации D-петли [1].

По данным литературы известно, что в норме в клетках дрожжей в протяжке D-петли участвует полимеразы  $\delta$  ( $pol\delta$ ). Она является высокопроцессивной и обладает как 5'-3', так и 3'-5' полимеразной активностью. Также известно, что у человека в норме в протяжке D-петли участвует полимеразы  $\eta$  ( $pol\eta$ ). При этом есть данные о том, что  $pol\eta$  может также участвовать в протяжке D-петли в дрожжевых клетках. Однако для ее работы в клетках дрожжей необходимы некоторые условия, при которых вместо  $pol\delta$  начинает работать  $pol\eta$ . Мы предположили, что условием для переключения полимераз, может служить мутация в гене *HIM1*. Для проверки данного предположения мы создали штаммы с делециями по генам *HIM1* и *RAD30*.

Ген *RAD30* кодирует  $pol\eta$ , данная полимеразы участвует в безошибочном обходе различных повреждений ДНК, вызванных ультрафиолетовым (УФ) излучением (циклобутановые димеры и др.) [2]. Дрожжевой ген *RAD30*, является гомологом человеческого гена *POLH*.

Одиночная делеция гена *RAD30*, не влияет на частоту УФ-индуцированного мутагенеза, который остается на уровне дикого типа (ДТ). При этом у штамма с делециями по обоим генам *RAD30* и *HIM1*, наблюдается уменьшение частоты УФ-индуцированного мутагенеза. При том, что чувствительность штаммов к УФ-свету практически не отличается от ДТ.

Исходя из полученных данных, мы можем предположить, что условием переключения полимераз, работающих в протяжке D-петли, является мутация в гене *HIM1*.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00540

[1]. Е.А. Алексеева, Т.А. Евстюхина и др. Взаимодействие продукта гена *HIM1* с геликазами Srs2 (RadH) и Mph1 дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. // 2018, Цит., Т.60, №7, с. 555-557.

[2]. A. Bresson, R.P.P. Fuchs. J. Lesion bypass in yeast cells: Pol $\eta$  participates in a multi-DNA polymerase process. // 2002, The EMBO, V21, №14, с. 3881-3887.

## АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА *ERCC2/XPD* И ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ У БОЛЬНЫХ АДЕНОКАРЦИНОМОЙ ЛЕГКОГО

Баканова М.Л.<sup>1</sup>, Минина В.И.<sup>1,2</sup>, Савченко Я.А.<sup>1</sup>, Соболева О.А.<sup>1</sup>, Рыжкова А.В.<sup>1</sup>,  
Титов Р.А.<sup>1</sup>, Тимофеева А.А.<sup>1</sup>, Астафьева Е.А.<sup>1</sup>, Титов В.А.<sup>3</sup>, Вафин И.А.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Россия, г. Кемерово, <sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», Россия, г. Кемерово; <sup>3</sup> ГБУЗ КО Областной клинический онкологический диспансер, Россия, г. Кемерово; <sup>4</sup> ГКУЗ КО Кемеровский областной центр крови, Россия, г. Кемерово

[mari-bakano@ya.ru](mailto:mari-bakano@ya.ru)

Рак легкого (РЛ) занимает ведущее место в структуре онкологической заболеваемости. Одним из распространенных видов РЛ является аденокарцинома легкого (АКЛ). Система репарации ДНК является первым барьером на пути возникновения геномной нестабильности и канцерогенеза под действием мутагенов. Эксцизионной репарации нуклеотидов (ЭРН) - основной путь репарации, который отвечает за восстановление громоздких повреждений ДНК. Одним из наиболее важных ферментов ЭРН - пути является *xeroderma pigmentosum D* (*XPD*), кодируемая геном *XPD/ERCC2*, полиморфный вариант, которого *rs13181* (*2251 A>C*) связан с более низкой репарационной способностью [1], повышенным риском развития онкопатологий [2] и увеличением хроматидных разрывов [3]. Признанным маркером, отражающим мутагенное воздействие среды на организм, являются спонтанный уровень хромосомных aberrаций (ХА) в лимфоцитах крови. **Цель** - изучение связи ХА с полиморфизмом гена *XPD/ERCC2* (*2251 A>C*) у больных АКЛ. Обследованы 304 человека первично обратившиеся для диагностики и лечения в Кемеровский областной онкологический диспансер (диагноз АКЛ) и 366 здоровых доноров Кемеровского областного центра крови. Полиморфные варианты гена *XPD* (*A2251C*) изучали аллель-специфической ПЦР (НПФ «Литех», г.Москва). Культивирование лимфоцитов крови для получения препаратов хромосом осуществляли с помощью стандартного полумикрометода. Статистическая обработка материала проводилась с использованием программ: SNPstats, «Statistica 10.0» (StatSoft, Inc., USA). Распределение изученных полиморфных вариантов гена *XPD* (*A2251C*) показал соответствие равновесию Харди-Вайнберга как в группе больных АКЛ, так и в группе сравнения. Выявлена взаимосвязь полиморфизма гена *XPD* (*A2251C*) с риском развития АКЛ. Наиболее значимо ассоциация проявлялась в доминантной модели наследования ( $OR_{adj}=1,88$ ; 95% CI:1,30-2,71;  $p_{adj}= 0,00006$ , AIC 754,7). В ходе цитогенетического анализа установлено, что средняя частота метафаз с ХА в клетках крови у больных РЛ статистически значимо отличалась от группы сравнения ( $3,14 \pm 2,26\%$  против  $1,74 \pm 1,25\%$ ;  $OR_{adj}=1,40$ ; 95% CI=1,22-1,57;  $p_{adj}= 0,000152$ ). Установлено превышение уровня ХА для обладателей генотипов C/C ( $3,89 \pm 2,57$ ), по сравнению с A/A ( $2,62 \pm 1,88$ ) гена *XPD* в группе больных РЛ ( $OR_{adj}=1,34$ ; 95% CI=1,14-1,54;  $p_{adj}= 0,003512$ ). Полученные результаты указывают возможное влияния вариантов гена *XPD* (*A2251C*) на риск развития АКЛ и структурную целостность хромосом у больных АКЛ.

[1]. Benhamou S., Sarasin A., ERCC2 /XPD gene polymorphisms and lung cancer: a HuGE review. // 2005, Am J Epidemiol., V.161, P.1–14.

[2]. Wu H.Y., Ding L.Y., Comprehensive assessment of the association between XPD rs13181 polymorphism and lung cancer risk. // 2014, Tumour Biol., V.35(8), P.8125-8132.

[3]. Au W.W., Salama S.A., Sierra-Torres C.H., Functional characterization of polymorphisms in DNA repair genes using cytogenetic challenge assays. // 2003, Environ Health Perspect, V.111, P.1843–1850.

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания № 0352-2016-001

## ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ [Fe-S]-КЛАСТЕРОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С С-КОНЦОМ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ $Pol\delta$ И $Pol\zeta$ В КОНТРОЛЕ СПОНТАННОГО И ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАГЕНЕЗА

Гринько А.Г.<sup>1</sup>, Степченкова Е.И.<sup>1,2</sup>, Павлов Ю.И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, 199034; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, 199034;

<sup>3</sup>Институт изучения рака им. Элли, Медицинский центр Университета Небраски, Омаха 68198, США

[alina.grinko.96@mail.ru](mailto:alina.grinko.96@mail.ru)

Повреждения ДНК блокируют матричные процессы – репликацию и транскрипцию, нарушая передачу и реализацию генетической информации, что может приводить к снижению жизнеспособности и гибели клетки. Для предотвращения негативного влияния повреждений, в клетках живых организмов реализуются различные программы ответа на подтверждения ДНК, такие как репарация или прямая коррекция повреждений. В процессе эволюции возникли дополнительные механизмы, позволяющие снижать вредное воздействие повреждений ДНК и направленные на преодоление блоков репликации. Один из таких механизмов заключается в смене основной репликативной ДНК-полимеразы  $Pol\delta$  или  $Pol\epsilon$  на одну из специализированных ДНК-полимераз – основной функцией, которых является синтез ДНК на поврежденных участках. Этот процесс получил название TransLesion DNA Synthesis (TLS, синтез ДНК в обход повреждения). TLS полимеразы – неточные, поэтому при нарушении регуляции их активности может повышаться частота спонтанного мутирования в клетках, что приводит к развитию онкологических заболеваний. Поэтому важно изучать факторы, участвующие в регуляции переключения ДНК-полимераз при репликации. Ранее мы показали что мутация *pol3-13*, нарушающая взаимодействие С-терминального домена каталитической субъединицы  $Pol\delta$  с [Fe-S] кластером, приводит к возрастанию частоты спонтанного мутагенеза и дефекту индуцированного мутагенеза, зависимо от  $Pol\zeta$ . Эти данные указывают на то, что [Fe-S] кластер необходим для привлечения неточной  $Pol\zeta$  на поврежденную матрицу, а на фоне отсутствия повреждений ДНК  $Pol\zeta$  может быть привлечена к репликации по механизму, независимому от [Fe-S] кластера, ассоциированного с С-терминальным концом  $Pol\delta$ . Кроме того, мы показали, что возникновение спонтанных мутаций на фоне *pol3-13* частично зависит от другой TLS ДНК-полимеразы Rev1, но не от ее каталитической активности, а ее роли скафолда.

В данной работе мы получили мутацию в гене *REV3*, кодирующую каталитическую субъединицу  $Pol\zeta$ , которая аналогична мутации *pol3-13* и приводит к замене цистеина, консервативного у ДНК-полимераз семейства В, на серин и может нарушать ассоциацию  $Pol\zeta$  с [Fe-S] кластером. Полученная мутация *rev3-13*, также как и *pol3-13* обладает ts-фенотипом и при повышенной температуре приводит к отсутствию УФ-индуцированного мутагенеза, но не стимулирует спонтанный мутагенез. Полученные данные подтверждают важную роль [Fe-S] кластера в контроле активности репликативных и специализированных ДНК-полимераз на поврежденной и неповрежденной матрицах.

## ВЛИЯНИЕ МУТАГЕННЫХ И НЕМУТАГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ РЕДАКТИРУЮЩИХ ЦИТИДИН-ДЕЗАМИНАЗ СЕМЕЙСТВА АРОВЕС/AID

Зотова И. В.<sup>1,2</sup>, Степченкова Е. И.<sup>1,2</sup>, Павлов Ю. И.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, 199034; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, 199034; <sup>3</sup>Медицинский центр университета штата Небраска (UNMC), Омаха, США

[info@grayhawk.spb.ru](mailto:info@grayhawk.spb.ru)

Цитидин-дезаминазы семейства AID/АРОВЕС участвуют в контроле транспорта холестерина, обеспечивают врожденный иммунитет и защиту от ретровирусов и ретротранспозонов, запускают процессы переключения изотипов антител, конверсию генов иммуноглобулинов (ИГ) и соматический гипермутагенез. AID/АРОВЕС инициируют эти процессы посредством реакции дезаминирования цитозина до урацила в составе ДНК или РНК. Дезаминирование цитозина – мутагенно, поскольку при репликации дезаминированной ДНК происходит индукция замен ЦГ->ТА, а при выщеплении урацила до репликации с появлением апириимидинового сайта – индуцирует трансверсии ЦГ->ГЦ. В норме активность цитидин-дезаминаз приурочена к определенным сайтам или генам, например, к варибельной части генов ИГ. При нарушении контроля активности дезаминаз, их мутагенное действие распространяется на весь геном. Нарушение регуляции активности AID/АРОВЕС рассматривают как одну из причин злокачественной трансформации клеток. Мутации, предположительно возникшие в результате работы дезаминаз, обнаружили в 22 видах раковых опухолей.

В настоящее время исследования активности дезаминаз ведутся по двум направлениям. Первое – это поиск путей снижения неспецифической активности дезаминаз в опухолевых тканях, для уменьшения темпа накопления мутаций и замедления эволюции раковых клеток. Второе направление – это исследование механизмов, способствующих увеличению активности дезаминаз, для индукции гипермутагенеза, который приведет или к прямой гибели раковых клеток, или сделает их чувствительными к иммунотерапии. Актуальным является поиск факторов, способных модифицировать мутагенную активность цитидин-дезаминаз.

В нашей работе впервые было исследовано влияние мутагенных факторов и температуры на активность редактирующих дезаминаз семейства АРОВЕС/AID. В качестве модельного организма мы использовали штаммы дрожжей *S.cerevisiae* с контролируемой экспрессией дезаминазы морской миноги *Petromyzon marinus*. Мы изучили летальный и мутагенный эффект совместного действия дезаминазы и мутагенов с известным механизмом действия - УФ-излучения, 6-гидроксиламинопурина (ГАП) и цисплатины. Мы показали, что эффекты этих мутагенов аддитивны к эффекту дезаминазы, следовательно эти мутагенные факторы действуют по независимым механизмам опосредованным разными системами репарации. Также было исследовано влияние пониженной и повышенной температуры на мутагенную активность данной дезаминазы: повышенная температура приводит к снижению мутагенной активности дезаминазы.

## ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ ЭКСТРЕМОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИИ *DEINOCOCCUS GOBIENSIS*

Никитин М.В.<sup>1</sup>, Простова М.А.<sup>1</sup>, Есюнина Д.М.<sup>1</sup>, Комар А.А.<sup>2</sup>, Кульбачинский А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной генетики РАН, Россия, Москва, пл. Академика Курчатова, 2;

<sup>2</sup> Center for Gene Regulation in Health and Disease and Department of Biological, Geological and Environmental Sciences, Cleveland State University, USA, Cleveland, OH, 2121 Euclid Ave;

[nikitin.mv@bk.ru](mailto:nikitin.mv@bk.ru)

Бактерии рода *Deinococcus* известны своей устойчивостью к ионизирующему и УФ-излучению. Выживание в таких экстремальных условиях обеспечивают, в том числе эффективные системы репарации повреждений ДНК. Одним из ее компонентов являются специализированные ДНК-полимеразы X- и Y-семейств. Ранее показано, что полимеразы X-семейства из *D. radiodurans* участвует в репарации двуниевых разрывов, возникающих при воздействии гамма- и УФ-излучения [1], что говорит о роли этой полимеразы в радиационной устойчивости. Полимеразы Y-семейства в *D. radiodurans* обнаружено не было [2], однако она является компонентом SOS-системы, активируемой, в том числе и ультрафиолетом у *E.coli*. Вид *D. gobiensis*, изолированный в 2009 году из песка в пустыне Гоби, содержит в геноме оба типа специализированных полимераз X и Y и обладает еще большей толерантностью к радиации и ультрафиолету, чем *D. radiodurans* [3].

Целью данной работы является изучение функциональных особенностей ДНК-полимераз X- и Y-семейств *D. gobiensis*. Гены этих полимераз были оптимизированы для успешной экспрессии белков в *E. coli* в растворимой форме и клонированы в экспрессионный вектор. Были подобраны условия экспрессии и методика выделения целевых полимераз с использованием хроматографической очистки на аффинных носителях. Были проведены эксперименты по изучению зависимости работы полимераз от температуры и концентрации катионов  $Mg^{2+}$  и  $Mn^{2+}$  и показано, в частности, что ДНК-полимераза Y работает, не теряя активности, при сравнительно высоких концентрациях  $Mn^{2+}$  (до 10 мМ). Специфичность включения нуклеотидов и способность полимераз к прохождению различных повреждений ДНК была изучена в присутствии как  $Mg^{2+}$ , так и  $Mn^{2+}$ . Создание набора рекомбинантных PolX и PolY, содержащих различные аминокислотные замены, позволило изучить неканонические активные центры этих полимераз. Эти исследования позволят лучше понять молекулярные механизмы функционирования специализированных ДНК-полимераз, вовлеченных в системы репарации ДНК рода *Deinococcus*.

[1]. Lecoite F., Shevelev I.V., Bailone A., Sommer S., Hübscher U., Involvement of an X family DNA polymerase in double-stranded break repair in the radioresistant organism *Deinococcus radiodurans*. // 2004, Molecular Microbiology, V.53, P.1721-173.

[2]. Lim S., Jung J.H., Blanchard L., de Groot A., Conservation and diversity of radiation and oxidative stress resistance mechanisms in *Deinococcus* species. // 2018, FEMS Microbiol. Rev., V.43(1), P.19–52.

[3]. Yuan M., Zhang W., Dai S., Wu J., Wang Y., Tao T., Chen M., Lin M., *Deinococcus gobiensis* sp. nov., an extremely radiation-resistant bacterium. // 2009, Int. J. Syst. Evol. Microbiol., V.59, P.1513-1517.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ 17-14-01393

## ЭНХАНСЕРЫ ГЕНА *VESTIGIAL D. MELANOGASTER* ЛОКАЛИЗУЮТСЯ В КРУПНЫХ ИНТРОНАХ ГЕНА.

Харченко Н.Е.<sup>1</sup>, Афанасьева К.П.<sup>1</sup>, Александров И.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ОИЯИ, Россия, Московская обл., г. Дубна, ул. Жолио-Кюри, д. 6

[harchenko@jinr.ru](mailto:harchenko@jinr.ru)

Как известно, у большинства хорошо изученных генов животных, в частности *yellow* и *white Drosophila melanogaster*, энхансеры генов локализируются в 5'-геномной последовательности на расстояниях более 1000 пар нуклеотид (п.н.). Нами в радиационно-генетических экспериментах, среди многочисленных мутаций гена *vestigial (vg) D. melanogaster* с классическим фенотипом  $vg^{mw}$  (полное отсутствие крыльев и галтер,  $w^-$  и  $h^-$ ; эректированные задние скутеллярные щетинки,  $ps^-$ ; стерильность самок-гомозигот,  $f^-$ ), была обнаружена необычная мутация  $vg^{mw}$ . Дальнейший генетический и молекулярный (ПЦР) анализ показал, что в основе мутации  $vg^{mw}$  83b27 ( $w^-, ps^+, h^-, f^+$ ) лежит большая делеция интрона 2. В процессе генетического анализа других радиационно-индуцированных мутаций этого гена, в балансерной хромосоме Gla в условиях гетерозиготности по крупной делеции гена  $vg$  88c28, наблюдался необычный фенотип характерный для классических аллелей  $vg^s$  ( $w^s, ps^-, h^+, f^+$ ). В результате генетического анализа хромосомы Gla с использованием набора небольших делеций этого интрона было установлено, что мутационные повреждения, определяющие фенотип  $vg^s$  212 в хромосоме Gla, локализируются в 5'-конце интрона 4 и представляют собой инсерцию размером около 200 п.н. Таким образом, нами впервые, по крайней мере для гена *vg D. melanogaster*, обнаружены две регуляторные области, по типу энхансеров, локализованные в двух крупных интронах гена, что расширяет наши представления о количестве и локализации таких элементов для крупных генов животных организмов. В настоящее время работа по секвенированию этих регуляторных районов начата и продолжается

## СЕКВЕНИРОВАНИЕ КАК НАУЧНАЯ ОСНОВА СОВРЕМЕННОЙ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКА ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ.

Александров И.Д., Александрова М.В.

Объединенный институт ядерных исследований, Россия, г. Дубна Московской области,  
141 980 г. Дубна Московской обл., ул. Жолио-Кюри, д. 6

e-mail: a38don@jinr.ru

Растущие базы данных по мутациям генетических болезней и состояний человека, аккумулируемые OMIM (<https://www.omim.org>) и HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac.index.php>), свидетельствуют о том, что почти половина генетических болезней обусловлена рецессивными точковыми мутациями соответствующих генов, в основе которых лежат, главным образом, замены оснований ДНК и реже микроделеции/микроинсерции. Следовательно, генетический груз популяций человека на молекулярном уровне представлен именно названными наследственными изменениями ДНК генов. В этой связи закономерен вопрос, насколько эффективны ионизирующие излучения разного вида в индукции подобного рода наследуемых изменений ДНК. Ответ на этот вопрос наряду с фундаментальным имеет и большое практическое значение, поскольку закладывает научную основу для оценки генетического риска (опасности) ионизирующих излучений в индукции рецессивных мутаций на молекулярном уровне. Учитывая практически полное отсутствие соответствующих данных для генеративных клеток животных, нами ведется систематический молекулярный (секвенирование) анализ изменений ДНК у рецессивных мутаций пяти разных генов *Drosophila melanogaster* после действия  $\gamma$ -излучения и нейтронов. В докладе будут представлены результаты секвенирования материнского аллеля *black*<sup>1</sup>, отцовского облучаемого *black*<sup>+32</sup>, 25  $\gamma$ - и 20 нейтрон-индуцированных точковых мутаций этого гена. Качественная картина изменений ДНК гена оказалась идентичной для двух видов радиации и представлена: 1) заменами оснований; 2) микроделециями/микроинсерциями и 3) замещениями облученного гена необлученным материнским *b*<sup>1</sup> (генная конверсия), относительная частота которых для  $\gamma$ -квантов составляет соответственно 44.8, 40.0 и 17.1% и для нейтронов 38.7, 9.7 и 51.6% соответственно. Учитывая известный размер секвенированной ДНК-мишени, количество проанализированных регулярных сибсов F<sub>1</sub> и число обнаруженных среди них точковых мутаций *black*, а также количество выявленных среди них замен оснований, можно оценить частоту индукции данного типа изменений ДНК на 1Гр и на 1нуклеотид для дозы 40 Гр, которая оказалась равной  $1.2 \times 10^{-9}$  /Гр/нуклеотид. Зная эту величину и частоту спонтанных замен оснований в геноме *Drosophila melanogaster* равную  $3.5 \times 10^{-9}$  /нуклеотид /поколение [1], можно определить часто используемую для оценки генетического риска удваивающую дозу как равную  $(3.5 \times 10^{-9}) / (1.2 \times 10^{-9}) = 2.9$  Гр, что почти в 2 раза ниже величины дозы для классически оцениваемой частоты рецессивных мутаций в экспериментах по локус-специфическому мутагенезу у *D. melanogaster* [2]. Согласно аналогичным расчетам для нейтронов, удваивающая доза для замен оснований оказывается равной 1.1 Гр для дозы 20 Гр. Приводятся и обсуждаются значения удваивающей дозы для  $\gamma$ -излучения и нейтронов при индукции микроделеций/микроинсерций и генной конверсии.

[1] Keightley P.D. Trivedi U. et all, Analysis of the genome sequences of three *Drosophila melanogaster* spontaneous mutation accumulation lines. // 2009, Cold spring Harbor Laboratory Press, V. 19, P.1195-1201.

[2] Neel J.V., Reappraisal of Studies Concerning the Genetic Effects of the Radiation of Human, Mice, and *Drosophila*.//1998, Environmental and Molecular Mutagenesis, V.31, P.4-10.

## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ МУТАЦИЙ VESTIGIAL-NO WING D. MELANOGASTER

Афанасьева К.П.<sup>1</sup>, Харченко Н.Е.<sup>1</sup>, Александров И.Д.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Объединенный институт ядерных исследований, Россия, Дубна, ул. Жолио-Кюри, 6, 141980  
afanasyeva@jinr.ru

В рамках широкомасштабных радиационно-генетических экспериментов нами получена значительная выборка новых мутаций гена *vestigial D.melanogaster*, среди которых преобладают мутанты с крайним проявлением мутационного фенотипа – *no wing*, идентичным классическому фенотипу по *wing* (отсутствие крыльев -  $w^-$ ; редукция галтер -  $h^-$ ; эректированность постскутулярных щетинок -  $ps^-$  и стерильность самок -  $f^-$ ), обусловленному по литературным данным делецией около 3 т.п.о. 3'-конца гена [1]. Для выяснения природы молекулярных изменений полученных нами мутаций *vestigial-no wing* нами проведены генетические и молекулярные исследования случайной выборки из 7 мутаций (vg79h1, vgc24, vg83l1, vg87e80, vg87g77, vg88c87, vg88d101) *vestigial-no wing* с классическим фенотипом. Одновременно были изучены 2 мутации *nowing* (vg83b27, vg83c3) с необычным фенотипом  $w^-; h^-; ps^+; f^+$ , в основе которых, как было выяснено ранее, лежит делеция интрона 2 [1], и которые комплементируют с классически «точковыми», но не комплементируют с делеционными мутациями этого гена [2]. Комплиментационный анализ показал, что мутации vg83b27 и vg83c3 комплементируют с изучаемыми 7-ю мутациями *no wing*, что позволяет предположить их «точковую» природу. В то же время 7 изученных мутаций *vestigial-no wing* между собой не комплементируют, что возможно связано с их локализацией в одном функциональном районе гена. Для выяснения этого района было проведено секвенирование последовательности всего гена, за исключением 4 интрона, у всей изучаемой выборки мутаций гена *vestigial-no wing*. Согласно первым полученным результатам функционально значимые изменения в виде делеции от 7 до 11 пар нуклеотидов выявлены лишь у 3 мутантов с их локализацией в экзоне 4. Таким образом эти результаты позволяют говорить о важном значении экзона 4 в нормальной экспрессии гена. Для остальных 4 мутантов в изученных районах гена функционально значимых изменений обнаружено не было. Молекулярный анализ мутантов vg83b27 и vg83c3, кроме ранее обнаруженной делеции интрона 2, не выявил других важных для экспрессии молекулярных изменений, что позволяет говорить о важной регуляторной роли интрона 2 в экспрессии гена *vestigial*, причем не всех его 4 признаков, а лишь двух: формирования крыловой пластины и галтер.

[1] Jim A. Williams et al. The functional organization of the vestigial locus in *Drosophila melanogaster*.//1990, Mol Gen Genet 221:8-16

[2] Alexandrov I.D. Alexandrova M.V. A new nw allele and interallelic complementation of the vg locus of *Drosophila melanogaster*.// 1987, Dros Inf Serv 66:11

## ТРАНСПОРТЕРЫ СИСТЕМЫ *MmpS5/MmpL5* ОБЕСПЕЧИВАЮТ УСТОЙЧИВОСТЬ *Mycobacterium smegmatis* К ИМИДАЗО[1,2- b][1,2,4,5]ТЕТРАЗИНАМ

Ватлин А.А.<sup>1</sup>, Шур К.В.<sup>1</sup>, Даниленко В.Н.<sup>1</sup>, Маслов Д.А.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН),  
Россия, Москва, ул. Губкина, 3, 119991;

[vatin\\_alexey123@mail.ru](mailto:vatin_alexey123@mail.ru)

По оценкам ВОЗ туберкулез (ТБ) является самым смертоносным на сегодняшний день инфекционным заболеванием, вызванным бактериальным возбудителем.

Основной проблемой в борьбе с ТБ в мире является возникновение и распространение штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (возбудителя ТБ) с множественной и широкой лекарственной устойчивости (МЛУ-ТБ, ШЛУ-ТБ). Россия, наряду с Индией и Китаем, является мировым лидером по распространению штаммов МЛУ-ТБ.

В связи с этим, основной задачей на сегодня является разработка новых противотуберкулезных препаратов, воздействующих на новые биомишени. Ранее в нашей лаборатории были отобраны четыре новых соединения класса замещенных имидазо[1,2-b][1,2,4,5]тетразинов (TSV-395, TSV-402, AVK-22, NIK-1283) [1], способных ингибировать рост *M. tuberculosis*, и проявившие активность как потенциальные ингибиторы серинтреониновых протеинкиназ (СТПК) в тест-системе *M. smegmatis* arhVIII+, однако их основные биомишени остаются неизвестными. Таким образом, наше исследование было направлено на выявление механизмов устойчивости к данным соединения – для этого нами были получены мутанты штамма *M. smegmatis* mc2 155, устойчивые к исследуемым соединениям, и проведено их дальнейшее полногеномное секвенирование (SRP145443) [2].

В результате сравнительного биоинформатического анализа геномов *M. smegmatis* нами были обнаружены 7 различных мутаций у разных штаммов (4 инсерции, 2 делеции, 1 единичная нуклеотидная замена) в гене MSMEG\_1380, кодирующем транскрипционный регулятор AcrR/TetR\_N, который участвует в регуляции экспрессии генов трансмембранных транспортеров системы *MmpS5/MmpL5*. Ранее было показано, что сверхэкспрессия генов *mmpS5/mmpL5* модулирует устойчивость к производным тиацетазона у *M. abscessus*, и перекрестную устойчивость к бедаквилину и клофазимину у *M. tuberculosis* [3]. Нами показано, что сверхэкспрессия MSMEG\_1380 повышает чувствительность *M. smegmatis* к исследуемым имидазо[1,2-b][1,2,4,5]тетразинам.

В дальнейшем мы планируем уточнить конкретные биомишени с помощью методов обратной генетики.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (РНФ №17-75-20060).

[1]. Maslov D.A., et al. // 2018, 43<sup>rd</sup> FEBS Congress.

[2] Maslov D.A., et al., Bulletin of RSMU, 2018, 3, 19-22.

[3] Hartkoorn R.C. et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2014, 58(5), 2979–2981.

## NEAR-CONTINUOUSLY SYNTHESIZED LEADING STRANDS IN *ESCHERICHIA COLI* ARE BROKEN BY RIBONUCLEOTIDE EXCISION

Cronan G., Kouzminova E. A., Kuzminov A.

*Department of Microbiology, University of Illinois at Urbana-Champaign, IL 61801, USA*

*kuzminov@illinois.edu*

In vitro, purified replisomes drive model replication forks to synthesize continuous leading strands, even without ligase, supporting the semi-discontinuous model of DNA replication. Yet, nascent replication intermediates isolated from ligase-deficient *E. coli* comprise only short (on average 1.2 kb) Okazaki fragments. It was long suspected that cells replicate their chromosomal DNA by the semi-discontinuous mode observed in vitro, but that in vivo, the nascent leading-strand was artefactually fragmented post-synthesis by excision repair. Here, using high-resolution separation of pulse-labeled replication intermediates coupled with strand-specific hybridization, we show that excision-proficient *E. coli* generates leading-strand intermediates >10-fold longer than lagging-strand Okazaki fragments. Inactivation of DNA repair activities, including ribonucleotide excision, further increased nascent leading-strand size to ~80 kb, while lagging-strand Okazaki fragments remained unaffected. We conclude that in vivo, repriming occurs ~70x less frequently on the leading versus lagging strands, and that DNA replication in *E. coli* is effectively semi-discontinuous.

## БЕЛОК-БЕЛКОВЫЕ И ДНК-БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В КОМПЛЕКСЕ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ НУКЛЕОТИДОВ И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ

Речкунова Н.И.<sup>1,2</sup>, Мальцева Е.А.<sup>1</sup>, Красикова Ю.С.<sup>1</sup>, Суханова М.В.<sup>1,2</sup>, Лаврик О.И.<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-т Лаврентьева 8; <sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, ул. Пирогова 1  
[nadyarec@niboch.nsc.ru](mailto:nadyarec@niboch.nsc.ru)

Генетическая стабильность живого организма в значительной степени определяется функционированием систем репарации ДНК. Один из важнейших путей репарации ДНК в клетках эукариот – эксцизионная репарация нуклеотидов (ЭРН), обеспечивает удаление из ДНК множества структурно различных повреждений, таких как пиримидиновые димеры, возникающие под действием УФ-света, и объемные химические аддукты, образующиеся при попадании в клетку канцерогенов или некоторых химиотерапевтических средств. Исправление повреждений системой ЭРН – сложный многостадийный процесс, протекающий с образованием множества промежуточных комплексов, сборка и функционирование которых осуществляются за счет ДНК-белковых и белок-белковых взаимодействий, требующих четкой координации и регуляции. Один из ключевых механизмов регуляции функций систем репарации ДНК – поли(ADP-рибозил)ирование белков, катализируемое поли(АДФ-рибоза)полимеразами (PARP) в ответ на повреждение ДНК. Исследованы взаимодействия с ДНК, модулирующими интермедиаты ЭРН, ключевых факторов процесса – комплекса фактора пигментной ксеродермы (XP) С с белком RAD23В (ХРС-RAD23В), ХРА и репликативного белка А (RPA), а также влияние PARP1 и полимера ADP-рибозы (PAR) на эти взаимодействия. Показано, что все исследуемые белки подвергаются PAR-илированию, катализируемому PARP1. Эффективность модификации ХРС-RAD23В (фактор узнавания повреждений), возрастала после УФ-облучения ДНК, используемой для активации PARP1 [1]. Все белки связывают PAR со средством, возрастающим с увеличением длины полимера, и влияют на активность PARP1. Белки ХРС-RAD23В и ХРА во всех случаях стимулировали синтез PAR, тогда как влияние RPA зависело от структуры используемой ДНК. В присутствии одноцепочечной ДНК RPA ингибировал синтез PAR, а в присутствии ДНК-дуплекса – стимулировал. Наибольший эффект стимуляции наблюдался в случае ДНК, содержащих одноцепочечный разрыв или однонуклеотидную брешь. Такие ДНК моделируют субстраты репарационных ДНК-полимераз  $\beta$  и  $\lambda$ . Показано, что синтез ДНК в брешах, катализируемый этими полимеразми, модулируется RPA и PARP1. Стимулирующий эффект RPA может быть связан с ускорением замещения авто-PAR-илированных молекул PARP1 в комплексе с ДНК на немодифицированные [2]. Полученные данные позволяют предположить участие RPA в регуляции активности PARP1, которая, в свою очередь, может играть важную роль в регуляции различных процессов, включая ЭРН. Таким образом, PARP1 можно отнести к универсальным регуляторам процессов репарации ДНК.

[1]. Maltseva et al. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 modulates interaction of the nucleotide excision repair factor XPC-RAD23B with DNA via poly(ADP-ribosyl)ation. // 2015, J. Biol. Chem., V. 290, P. 21811-21820.

[2] Maltseva et al. Replication protein A as a modulator of the poly(ADP-ribose)polymerase 1 activity. // 2018, DNA Repair, V. 72, P. 28-38.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФ (14-24-00038) и РФФИ (18-04-00596).

## ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ДНК КОМЕТ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ОДНО- И ДВУЦЕПОЧНЫХ РАЗРЫВОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

Фролова Т. С.<sup>1,2</sup>, Сеницина О. И.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 9;

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 2.

[frolova@bionet.nsc.ru](mailto:frolova@bionet.nsc.ru)

Для оценки генотоксических повреждений ДНК используется широкий спектр методов: молекулярно-биологических, цитологических, биохимических. Одним из самых востребованных является метод ДНК комет, позволяющий детектировать как одноцепочечные, так и двуцепочечные повреждения.

Основным преимуществом метода ДНК комет является его высокая чувствительность. Но на практике это оборачивается рядом недостатков: при постановке необходимо учитывать большое число факторов помимо исследуемого (например, освещение и температура в помещении), чтобы получить адекватный результат. Зачастую воспроизводимость экспериментов получается очень низкой, что вынуждает исследователей отказаться от постановки этого метода.

Нам удалось оптимизировать метод ДНК комет для исследования генотоксических повреждений, возникающих в растительных клетках. В качестве модельного объекта выбраны проростки лука *Allium cepa*. Методика отработана как для детекции одноцепочечных повреждений, так и двуцепочечных, возникающих в результате облучения проростков гамма-излучением.

Оптимизация метода проводилась по нескольким параметрам: время проращивания семян *Allium cepa*, способ выделения ядер из проростков, нанесение выделенных ядер на стекла, pH буферного раствора при фореze и время его проведения, подбор красителя для визуализации ДНК комет. Так же был определен рабочий диапазон доз гамма-излучения, в которых метод является рабочим для совместной детекции одно- и двуцепочечных повреждений ДНК.

В настоящее время проводится исследование рабочего диапазона метода ДНК комет для выявления только двуцепочечных повреждений. В дальнейшем предполагается сравнить результаты, полученные при детекции как одно- и двуцепочечных, так и только двуцепочечных повреждений, с целью получения количественного соотношения обоих типов повреждения ДНК при воздействии гамма-излучением.

## СТРЕССИРОВАНИЕ 2,5-ДИМЕТИЛПИРАЗИНОМ ВЫЗЫВАЕТ УВЕЛИЧЕНИЕ ЧИСЛА КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА С ФОКУСАМИ $\gamma$ H2AX ГИСТОНА У САМЦОВ МЫШЕЙ

Щербинина В.Д.<sup>1</sup>, Мамонтова В.А.<sup>1</sup>, Поденкова У.И.<sup>1</sup>, Бурнусуз А.В.<sup>1</sup>, Петрова М.В.<sup>2</sup>, Глинин Т. С.<sup>1</sup>, Даев Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7-9; <sup>2</sup>CAS-MPG Partner Institute for Computational Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, CAS  
[sherbinina.veronika2014@yandex.ru](mailto:sherbinina.veronika2014@yandex.ru)

Впервые показано, что двухчасовое стрессирование 0,01% раствором феромона 2,5-ДМП увеличивает долю клеток костного мозга с фокусами  $\gamma$ H2AX гистона через 2 часа у самцов мышей линии СВА. (Me $\pm$ SD)% клеток с фокусами у контрольных животных (n=6) составила 2,3 $\pm$ 1,1, в то время как у стрессированных самцов (n=8) она была увеличена до 4,9 $\pm$ 1,3 (тест Манна-Уитни p=0,0080). Эти предварительные данные хорошо согласуются с выявленным ранее увеличением содержания щелочнолабильных сайтов и хромосомных aberrаций в клетках костного мозга стрессированных самцов [1]. Они подтверждают предположение авторов о том, что негативные эффекты стресса затрагивают функционирование клеток жизненно важных органов на геномном уровне. Использование модели ольфакторно-индуцированного стресса у самцов мышей позволяет продемонстрировать механизм возникновения нарушений в геноме путем образования сайтов, доступных для атаки любыми молекулами, нарушающими целостность ДНК, что ведет, в частности, к появлению двунитевых разрывов. Возможно также ингибирование пролиферативной активности клеток за счет ареста митоза при переходе G2/M [2].

Таким образом, показано, что стрессирование самцов мышей летучими хемосигналами, имеющими зоосоциальное значение, способно дезинтегрировать геном клеток костного мозга, что может вести к иммуносупрессии, опосредованной центральной нервной системой реципиентов [3].

В условиях усиления социально-индуцированных стрессов у человека на современном этапе, полученные в настоящем исследовании на мышах приоритетные данные могут иметь большое значение.

Список литературы:

[1]. Даев Е.В., Петрова М.В., Онопа Л.С., Шубина В.А., Глинин Т.С., Повреждение ДНК в клетках костного мозга самцов мышей *in vivo* после феромонального воздействия методом ДНК-комет. // 2017, Генетика, Т. 53, № 10, С. 1170–1178.

[2]. Wen-Zhi Tu, et al.,  $\gamma$ H2AX foci formation in the absence of DNA damage: Mitotic H2AX phosphorylation is mediated by the DNA-PKcs/CHK2 pathway.//FEBS Letters, V.587, I.21, P.3437-3443

[3]. Merikangas K.R., Pine D., Genetic and other vulnerability factors for anxiety and stress disorders.// 2002, Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress, P.867-882.

## Симпозиум XII: Симбиогенетика и метагеномика / Symposium XII: Symbiogenetics and Metagenomics

### СВЯЗЬ СОСТАВА БАКТЕРИАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ ВЕРНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ С ГЕНОТОКСИЧЕСКИМИ ЭФФЕКТАМИ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ РАБОТНИКОВ УГОЛЬНОЙ ИНДУСТРИИ

Баранова Е.Д., Дружинин В.Г.

Кемеровский государственный университет, Россия, г. Кемерово, ул. Красная, 6  
[laveivana@mail.ru](mailto:laveivana@mail.ru)

Бактериальная микрофлора, населяющая наш организм, составляет сложнейшее сообщество микроорганизмов, называемое микробиотой. Эволюционно закрепившийся состав бактериальной микробиоты участвует как в поддержании нормального физиологического гомеостаза, так и в развитии различных заболеваний, используя различные механизмы, в том числе, за счет способности индуцировать или модулировать мутационный процесс в клетках организма хозяина [1]. Взаимосвязь статуса микробиома человека с мутагенными и канцерогенными эффектами в клетках его организма может наиболее ярко проявиться в условиях выраженной (профессиональной) экспозиции экологическими токсикантами. Целью данной работы является проверка гипотезы о том, что стабильность генома человека в условиях профессиональной экспозиции генотоксическими факторами угольной индустрии может прямо (или опосредованно) зависеть от состава бактериальной микробиоты верхних дыхательных путей, который, в свою очередь, может быть связан с развитием профессиональной патологии органов дыхания. В ряду промышленных предприятий, относящихся к разряду опасных по параметрам загрязнения окружающей среды мутагенами и канцерогенами, особая роль отводится производствам угольного цикла (добыча и переработка). В производственных циклах и отходах этих предприятий выделяется целый комплекс генотоксических факторов, которые приводят к увеличению общей и онкологической заболеваемости у работников угольной индустрии. В этих условиях маркерами повышенной индивидуальной чувствительности к действию генотоксических агентов и показателем повышенного канцерогенного риска может служить накопление хромосомных aberrаций и микроядер в соматических клетках. Также, свой вклад в определение стабильности генома, поддержание генетического гомеостаза в условиях экспозиции комплексом негативных факторов угледобывающего производства (согласно предложенной гипотезе) должны вносить количественные и качественные особенности микробиома респираторного тракта. В докладе обсуждается взаимосвязь состава бактериальной микрофлоры верхних дыхательных путей, выявленного с использованием метода массового параллельного секвенирования 16S областей метагеномной ДНК с ассоциированными генотоксическими эффектами в лимфоцитах периферической крови, в когортах шахтеров, больных различными пневмокониозами и контрольной выборке.

**Благодарности:** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда проект № 18-14-00022.

1. Дружинин В.Г., Баранова Е.Д., Буслаев В.Ю., и др. Бактериальные эффекторы повреждений ДНК в клетках организма хозяина // 2018, Экологическая генетика., Т. 16. – № 3. – С. 26–36. doi: 10.17816/ecogen16326-36.

## РОЛЬ ГЕТЕРОТРИМЕРНЫХ G-БЕЛКОВ В КОНТРОЛЕ КЛУБЕНЬКООБРАЗОВАНИЯ У ГОРОХА *PISUM SATIVUM* L.

Бовин А.Д.<sup>1</sup>, Павлова О.А.<sup>1</sup>, Лепянен И.В.<sup>1</sup>, Кириенко А.Н.<sup>1</sup>, Долгих Е.А.<sup>1</sup>

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, г. Санкт-Петербург, Россия

[andy-piter2007@mail.ru](mailto:andy-piter2007@mail.ru)

Интерес к изучению гетеротримерных G-белков растений связан с тем, что это одни из основных мастер-регуляторов сигнальных путей в клетках. Они взаимодействуют с такими компонентами как фосфолипазы С и D, протеинкиназы, ионные каналы, регулируют образование АФК и кальциевый обмен в клетках. Гетеротримерные G-белки растений принимают участие в гормональной регуляции, контроле пролиферации клеток, ответе на абиотические факторы, контроле биотических взаимодействий и многих других. Однако для большинства процессов механизмы работы гетеротримерных G-белков остаются малоизученными. Основной целью нашей работы является изучение роли гетеротримерных G-белков в регуляции процесса клубенькообразования у гороха посевного (*Pisum sativum* L.). У гороха было выявлено несколько гетеротримерных G-белков, состоящих из различных  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединиц.

Известно, что в инициацию развития симбиоза гороха с азотфиксирующими бактериями ризобиями вовлечен комплекс рецепторов, который узнает сигнальные молекулы ризобий – Nod-факторы. С помощью метода ко-иммунопреципитации нами было показано, что киназный домен одного из таких рецепторов – рецепторной киназы K1 – взаимодействует с  $\alpha$ -субъединицей гетеротримерного G-белка. Это указывает на возможность участия гетеротримерных G-белков в передаче сигнала от рецепторов, контролирующего развитие симбиоза. Для подтверждения роли гетеротримерных G-белков в регуляции такого симбиоза были получены растения с подавленной экспрессией гена  $\beta$ 1-субъединицы G-белка и изучено взаимодействие между разными субъединицами G-белка с помощью дрожжевой дигибридной системы и иммунопреципитации.

Помимо этого, нам удалось показать, что другая форма G-белка может участвовать в системной регуляции клубенькообразования. У растений с подавленной с помощью РНК-интерференции экспрессией гена, кодирующего  $\beta$ 2-субъединицу гетеротримерного G-белка (*Gbeta2-RNAi*), наблюдали существенное увеличение количества примордиев/клубеньков по сравнению с контролем (растениями, несущими ген  $\beta$ -глюкуронидазы (*GUS*)). В клубеньках растений *Gbeta2-RNAi* наблюдали увеличение экспрессии генов, участвующих в системном контроле клубенькообразования. Механизмы участия данной формы G-белка в контроле пролиферации клеток и системной регуляции клубенькообразования обсуждаются.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФ 16-16-10043 и 17-76-30016.

## АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ PSNCR019 И PSNCR046 *P. SATIVUM* L. ПРОТИВ ПОЧВЕННЫХ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Васильева Е.Н.<sup>1,2</sup>, Клюкова М.С.<sup>1</sup>, Зорин Е.А.<sup>1</sup>, Афонин А.М.<sup>1</sup>, Ахтемова Г.А.<sup>1</sup>, Жуков В.А.<sup>1</sup>, Тихонович И.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИ Сельскохозяйственной Микробиологии, шоссе Подбельского, 3, 196608, Пушкин, г. Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский Государственный Университет, Университетская наб. 7-9, 199034, г. Санкт-Петербург, Россия

[evasilieva@arriam.ru](mailto:evasilieva@arriam.ru)

Растения из семейства Бобовые формируют симбиоз с грибами фило Glomeromycota (арбускулярная микориза), азотфиксирующий симбиоз с клубеньковыми бактериями (ризобиями); внутренние ткани бобовых содержат также эндофитные микроорганизмы. Контроль за столь различными видами взаимодействий осуществляется в том числе за счет антимикробных белков – дефензинов. У некоторых бобовых растений были обнаружены дефензин-подобные клубенек-специфичные цистеин-богатые пептиды (NCRs, от англ. Nodule-specific Cysteine-Rich peptides). NCR-пептиды имеют различное действие на «совместимых» и «несовместимых» бактерий, проникающих в клубеньки: в первом случае они вызывают необратимую дифференцировку клеток в симбиотическую форму – бактериоды; в случае «несовместимых» бактерий пептиды вызывают гибель последних. Целью данной работы являлась идентификация NCR-пептидов *P. sativum*, обладающих антимикробной активностью.

В результате анализа физико-химических параметров, а также использования специализированного веб-ресурса (CAMP: Collection of Anti-Microbial Peptides) для предсказания антимикробной активности пептидов, среди ранее идентифицированных NCR-пептидов гороха посевного, PsNCR019 и PsNCR046 были выбраны для химического синтеза. Предсказанная антимикробная активность была проверена в последующих экспериментах на эндофитных грамположительных бактериях рода *Bacillus sp.*, выделенных ранее из тканей гороха посевного, а также на *Arthrobacter mysorens* (штамм 7 из коллекции ФГБНУ ВНИИСХМ).

Антимикробная активность PsNCR019 была показана для *A. mysorens* в опыте по определению минимальной ингибирующей концентрации (МИК), которая составила 4 мМ. При определении минимальной бактерицидной концентрации (МБК) рост культуры не наблюдался даже при 128 мМ. Полная элиминирующая концентрация не была установлена из-за высокой плотности бактериальной культуры. Для PsNCR046 показатель МИК составил 128 мМ в случае *Bacillus sp.* и 2 мМ в случае *A. mysorens*. Показатель МБК для *Bacillus sp.* составил 128 мМ, а для *A. mysorens* - 32 мМ. Данный пептид также оказался очень эффективным при проведении опыта по определению полной элиминирующей концентрации, которая составила 25 мМ для *Bacillus sp.*, однако для *A. mysorens* показатель также не был установлен.

В результате проделанной работы удалось выявить NCR-пептиды гороха посевного с антимикробной активностью против грамположительных почвенных бактерий.

Данная работа была выполнена при поддержке грантов РНФ (17-76-30016 и 16-16-00118) и РФФИ (18-34-00187).

## ИНАКТИВАЦИЯ ГЕНА *NODX* В ШТАМАХ *R.LEGUMINOSARUM BV. VICIAE*, СИМБИОНТОВ РЕЛИКТОВОГО БОБОВОГО *VAVILOVIA FORMOSA*.

Гладков Г.В.<sup>1</sup>, Кимеклис А.К.<sup>1,2</sup>, Онищук О.П.<sup>1</sup>, Курчак О.Н.<sup>1</sup>, Кузнецова И.Г.<sup>1</sup>, Сазанова А.Л.<sup>1</sup>, Сафронова В.И.<sup>1</sup>, Белимов А.А.<sup>1</sup>, Аксёнова Т.С.<sup>1</sup>, Пинаев А.Г.<sup>1</sup>, Андронов Е.Е.<sup>1,2,3</sup>, Проворов Н.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, Пушкин, ш. Подбельского 3; <sup>2</sup>СПбГУ, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7-9; <sup>3</sup>Почвенный институт имени В. В. Докучаева РАН, Россия, Москва, Пыжевский пер. 7с2.

[ruginodis@gmail.com](mailto:ruginodis@gmail.com)

Ген *nodX* кодирует о-ацетилтрансферазу. В бобово-ризобиальном симбиозе этот ген принимает участие при синтезе нод-фактора у ризобий. Такой нод-фактор приобретает особую структуру, которая узнается определённым типом рецептора у бобового растения. Эта система симбиоза описана для группы горохов из Афганистана и Таджикистана [1]. Тем не менее, у всех симбионтов *Vavilovia formosa*, принадлежащим виду *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, в геноме также находится этот ген. Для выяснения его значимости в этом симбиозе мы планируем сконструировать вектор для сайт-специфичного мутагенеза с целью выключения экспрессии гена *nodX*. Полученные с помощью этого вектора мутанты ризобий в микровегетационном опыте на вавиловии и афганском горохе позволят увидеть, влияет ли его присутствие на эффективность симбиоза. Если это так, то система *Vavilovia formosa* – *Rhizobium leguminosarum*, возможно, является одним из эволюционных звеньев между древними и современными ризобиями.

[1] Ovtsyna A.O., Geert-Jan Rademaker G.-J., Esser E. et al. Comparison of Characteristics of the *nodX* Genes from Various *Rhizobium leguminosarum* Strains. // 1999, Mol Plant-Microbe Interact, V.12(3), P.252-258

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке грантом РФФИ 18-316-00124.

## УЧАСТИЕ DELLA-БЕЛКОВ В РЕГУЛЯЦИИ МЕТАБОЛИЗМА ЦИТОКИНИНОВ ПРИ РАЗВИТИИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА

Долгих А.В.<sup>1,2</sup>, Кириенко А.Н.<sup>1</sup>, Тихонович И.А.<sup>1</sup>, Долгих Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Россия, Санкт-Петербург, шоссе Подбельского д.3, 196608 ; <sup>2</sup> Санкт-Петербургский Государственный Университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб 7/9, 199034

[sqshadol@gmail.com](mailto:sqshadol@gmail.com)

Бобовые растения способны образовывать симбиоз с бактериями порядка *Rhizobiales*, который приводит к формированию новых органов на корнях – азотфиксирующих клубеньков. В основе этого процесса лежит несколько последовательных этапов: инициация развития внутриклеточной инфекции в клетках эпидермиса, органогенез клубеньков в клетках коры и формирование функциональных азотфиксирующих клубеньков. Интеграция этих событий должна обеспечиваться целым комплексом факторов, однако механизмы передачи сигнала от клеток эпидермиса в кору остаются мало изучены. Возможными регуляторами, обеспечивающими это взаимодействие, являются транскрипционные факторы и фитогормоны, прежде всего цитокинины, гиббереллины и ауксины. Известно, что биосинтез цитокининов и гиббереллинов первоначально активируется в клетках эпидермиса под влиянием ризобияльных сигналов Nod-факторов. На следующем этапе развития симбиоза, синтез этих гормонов активируется уже в формирующихся примордиях в клетках коры, что было показано с помощью иммулокализации и репортерных конструкций.

Основные регуляторы ответа растений на гиббереллины – DELLA-белки, разрушающиеся при повышении уровня активных гиббереллинов, являются важным компонентом в развитии симбиоза. Установлено, что DELLA-белки взаимодействуют с основными транскрипционными факторами, контролирующими симбиоз, а именно IPD3, NSP2 и NF-YA1. При этом стимуляции DELLA-белков в клетках эпидермиса достаточно для активации закладки клубеньков в клетках коры. Активация экспрессии генов биосинтеза цитокининов, таких как *LOG* и *IPT*, контролируется гомеодомен-содержащими транскрипционными факторами *KNOX* и их ко-факторами *BELL*. В процессе развития симбиоза активируется несколько генов *KNOX* и *BELL*. В нашей работе мы показали, что DELLA-белки, образуя комплекс с транскрипционным фактором IPD3, могут регулировать экспрессию генов, кодирующих *KNOX* и *BELL* транскрипционные факторы. При оценке фенотипов мутантов *della* и *ipd3* было обнаружено значительное снижение клубенькообразования в обоих случаях, а изучение изменения уровня транскрипции генов выявило существенное снижение экспрессии *KNOX3*, *KNOX9*, *BELL1*, *GA20ox* и *LOG1* у обоих мутантов. Таким образом, взаимодействие DELLA с IPD3, по-видимому, является необходимым именно для процесса закладки клубеньков и регуляции генов биосинтеза цитокининов.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФ 16-16-10043 и РФФ 17-76-30016.

## ПОИСК ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА NCR-ПЕПТИДОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.), ОБЛАДАЮЩИХ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ.

Зорин Е.А.<sup>1</sup>, Ключкова М.С.<sup>1</sup>, Афонин А.М.<sup>1</sup>, Тихонович И.А.<sup>1,2</sup>, Жуков В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии”, Пушкин, Санкт-Петербург, Россия, ш. Подбельского, 3.

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования “Санкт-Петербургский государственный университет”, Санкт-Петербург, Россия, Университетская набережная, 7-9.

Бобовые растения обладают важным эволюционным преимуществом – способностью вступать в симбиоз с различными почвенными бактериями, относящимися к группе ризобий. В результате установления азотфиксирующего симбиоза бактерии проникают в корневой клубенок, внутри которого они подвергаются процессу дифференцировки в азотфиксирующий бактериоид вследствие активного участия растительных эффекторных молекул. Одним из участников данного процесса у IRLC (Inverted Repeat Lacking Clade) бобовых является семейство клубенок-специфичных цистеин-богатых пептидов – NCR-пептидов. Для гороха посевного, в отличие от модельного растения люцерны слабоусеченной, поиск представителей данного семейства весьма затруднен вследствие отсутствия данных геномного секвенирования. Однако существует значительное количество данных РНК-секвенирования различных органов и тканей *P. sativum*, в том числе клубеньков, благодаря которым ранее были идентифицированы 543 последовательности, кодирующие NCR-пептиды у гороха посевного. Целью данной работы являлся поиск NCR-пептидов, обладающих антимикробной активностью.

Для ранее идентифицированных NCR-пептидов были предсказаны физико-химические свойства (заряд, гидрофобность, индекс Бомана) и вероятность проявления антимикробной активности. При помощи веб-ресурса CAMP (Collection of Antimicrobial Peptides) было показано, что 209 NCR-пептидов определяются как антимикробные.

При визуальном анализе расположения NCR-пептидов на филогенетическом дереве и их физико-химических свойств, взаимосвязи между этими переменными выявлено не было. Однако применение статистических тестов позволило обнаружить корреляцию между положением NCR-пептида на филогенетическом дереве и его физико-химическими параметрами: различные филогенетические группы различаются между собой по среднему значению индекса Бомана на статистически значимом уровне ( $p$ -value  $1.93 \cdot 10^{-14}$ ), по значению гидрофобности ( $1.08 \cdot 10^{-09}$ ) и заряда. Подсчёт кофенетической корреляции и гамма корреляции показал отсутствие взаимосвязи между филогенетическими группами и паттерном экспрессии NCR-пептидов (0.002872769 и -0.003707382, соответственно). Применение дисперсионного анализа и теста Краскела-Уоллиса также показало отсутствие корреляции между физико-химическими параметрами и паттерном экспрессии.

Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФ (17-76-30016 и 16-16-00118) и РФФИ (18-34-00187).

## NODULE DEVELOPMENT IS ACCOMPANIED BY A CHANGE IN THE GLUTATHIONE / HOMOGLUTATHIONE RATIO IN *PISUM SATIVUM* L.

Ivanova K. A. , Tsyganov V.E.

All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Podbelsky chaussee 3, 196608, Pushkin 8, Saint-Petersburg, Russia.

[kivanova@arriam.ru](mailto:kivanova@arriam.ru)

The thiol tripeptide (GSH) plays a key role during symbiotic nodule development and functioning. However, the specific function of its homologue homoglutathione (hGSH) in legumes remains unclear. Wild-type pea line SGE and mutant *sym33* (ortholog of *Medicago truncatula* *IPD3* and *Lotus japonicus* *CYCLOPS*) and *sym40* (ortholog of *M. truncatula* *EFD*) were used. Nodules of mutant *sym33-2* are characterized with “locked” infection threads arrested in the nodule outer cortex and the absence of bacterial release. Nodules of allelic mutant *sym33-3* has “leaky” phenotype and infection thread penetrates cells derived from the nodule meristem and bacterial release occasionally occurs in some cells. Nodules of mutant *sym40* are characterized with hypertrophied infection droplets and abnormal bacteroid differentiation. All mutants manifest increased defense reactions.

We examined expression of *GSH1* ( $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase), *GSHS* (glutathione synthetase) and *HGSHS* (homoglutathione synthetase) in 3-week-old uninoculated roots and nodules. *HGSHS* expression was higher relative to *GSHS* expression in uninoculated roots. The same increase of *HGSHS* expression was observed in nodules of the mutants *sym33*, whereas in nodules of wild-type and mutant *sym40* *GSHS* expression was higher than *HGSHS*.

HPLS-MS analysis revealed that GSH was the main thiol in the nodules of all analyzed genotypes. The [GSH:hGSH] ratio was maximal in wild-type nodules and decreased gradually in mutant nodules depending on their developmental stage (from *sym40* to *sym33-2*). Uninoculated roots show the lowest [GSH:hGSH] ratio. The highest amount of GSH and hGSH among all genotypes was observed in wild-type and *sym33-3* nodules, respectively. At the same time, the observed increase in the expression level of the *HGSHS* compare to *GSHS* in uninoculated roots did not lead to increase in the amount of hGSH, which indicates that its synthesis could be regulated on the post-transcriptional or post-translational level.

The shift in thiols content in nodules relative to uninoculated roots suggests that GSH and hGSH or rather their ratio may be involved in the regulation of pea nodule development and bacterial release. Moreover, hGSH may participate in manifestation of defense response triggering by interruption of nodule infection.

**Acknowledgments:** This work was funded by Russian Science Foundation (17-76-30016)

## ОСОБЕННОСТИ СИМБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ РИЗОБИЙ RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM BV. VICIAE РЕЛИКТОВОГО БОБОВОГО VAVILOVIA FORMOSA.

Кимеклис А.К.<sup>1,2</sup>, Гладков Г.В.<sup>1</sup>, Кузнецова И.Г.<sup>1</sup>, Сазанова А.Л.<sup>1</sup>, Сафронова В.И.<sup>1</sup>,  
Белимов А.А.<sup>1</sup>, Онищук О.П.<sup>1</sup>, Курчак О.Н.<sup>1</sup>, Аксёнова Т.С.<sup>1</sup>, Пинаев А.Г.<sup>1</sup>, Андронов  
Е.Е.<sup>1,2,3</sup>, Проворов Н.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, Пушкин, ш. Подбельского 3; <sup>2</sup>СПбГУ, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7-9; <sup>3</sup>Почвенный институт имени В. В. Докучаева РАН, Россия, Москва, Пыжевский пер. 7с2.

[kimeklis@gmail.com](mailto:kimeklis@gmail.com)

Объектом исследования являются штаммы ризобий, выделенные из клубеньков реликтового бобового растения *Vavilovia formosa*. Это бобовое растение является эндемиком Кавказских гор и ближнего востока, в данный момент находится под угрозой исчезновения, но самое главное, что его считают наиболее близким родственным видом к общему предку трибы *Fabeae* [1]. Ранее мы показали, что большая часть штаммов наиболее близка к виду *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, но при этом, на основании анализа нуклеотидных последовательностей симбиотических генов, она выделяется в отдельную группу внутри этого биовара. Второй особенностью этих штаммов является строение симбиотического региона, в частности, наличие гена *nodX*. Показано, что симбиозы с бобовыми растениями, а именно горохами «афганской» группы, образуемые при участии этого гена, являются температурочувствительными. В данной работе мы более подробно исследуем фенотипические признаки опытных штаммов, а также проверяем их симбиотическую активность при разных температурных режимах на разных растениях-хозяевах, чтобы узнать насколько схожи симбиотические системы вавиловии прекрасной и афганского гороха. Полученные результаты позволят более подробно изучить эволюционную историю бобово-ризобиального симбиоза в группе *Fabeae* – *R. leguminosarum* bv. *viciae*.

[1] Mikić A., Smýkal P., Kenicer G. et. al. The bicentenary of the research on ‘beautiful’ vavilovia (*Vavilovia formosa*), a legume crop wild relative with taxonomic and agronomic potential. // 2013, Bot J Linn Soc, V.172, P.524-531.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке грантом РФФИ 18-316-00124.

## ПОИСК ЭНДОСИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ В АССОЦИАЦИЯХ «ТЛЯ — НАЕЗДНИК»

Деменкова М.А.<sup>1,2</sup>, Коложвари А.Э.<sup>2</sup>, Гандрабур Е.С.<sup>3</sup>, Юрлова Г.В.<sup>1</sup>, Быков Р. А.<sup>1</sup>,  
Илинский Ю.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН, РФ, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10; <sup>2</sup> Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Пирогова 1;

<sup>3</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, г. Пушкин, ш. Подбельского, д 3

[a.kolozhvari@yandex.ru](mailto:a.kolozhvari@yandex.ru)

Многие виды тлей являются опасными вредителями культурных растений. Одним из регуляторов численности тли являются осы-наездники, которые развиваются внутри хозяина и в конечном итоге убивают его. Иногда иммунная система хозяина справляется с паразитоидом и тля выживает. В результате этих процессов может происходить реципрокный перенос симбиотических бактерий. В данной работе предпринята попытка выявления подобных фактов горизонтальной передачи в системе «тля–наездник». Для этого мы искали одинаковые штаммы бактерий у паразита и хозяина.

Коллекция насекомых насчитывала 15 видов тлей из семейства Aphididae, 6 видов ос-наездников из семейства Braconidae и двух особей, определенных только до надсемейства Chalcidoidea. Проведен скрининг на наличие эндосимбиотических бактерий *Arsenophonus*, *Wolbachia* и *Spiroplasma*. Такой выбор обусловлен широкой распространенностью этих бактерий у насекомых. Хотя эти симбионты передаются преимущественно вертикально, филогенетические исследования показывают, что они могут передаваться и горизонтально, как непосредственно между разными видами насекомых, так и через кормовое растение.

Поиск эндосимбиотических бактерий осуществлялся с использованием специфичных праймеров к бактериальным генам. Для инфицированных образцов проводили секвенирование белок-кодирующих и рибосомальных генов бактерий для последующего филогенетического анализа. В докладе представлены и обсуждены полученные результаты.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ № 18-316-00099 и № 19-04-00739

## ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ, СУПРЕССИРУЮЩИХ МУТАЦИИ В ПОЗДНИХ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНАХ *SYM25* И *SYM26* ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM*)

Масликова Т.И., Афонин А.М., Сулима А.С., Жуков В.А.

ФГБНУ ВНИИСХМ, шоссе Подбельского, д. 3, Пушкин-8, г. Санкт-Петербург

[Kosha44@yandex.ru](mailto:Kosha44@yandex.ru)

Дополнительными поставщиками азота для бобовых растений служат симбиотические клубеньки, образованные азотфиксирующими бактериями из группы ризобий. Клубеньки, не способные к фиксации азота (по причине мутации в симбиотическом гене растения или из-за несовместимости штамма, попавшего в клубенек, с данным растением), подвергаются раннему старению и отмирают. В исключительных случаях некоторые штаммы ризобий способны образовывать клубеньки, успешно фиксирующие азот, на корнях мутантных растений, таким образом супрессируя мутации.

Мутанты Р61 и Р63 гороха посевного (*Pisum sativum* L.), несущие мутации в генах *Sym25* и *Sym26*, при взаимодействии со многими известными штаммами клубеньковых бактерий образуют неэффективные (Fix<sup>-</sup>, т.е. не фиксирующие азот), преждевременно стареющие клубеньки. Целью настоящей работы является поиск и генетическая характеристика новых штаммов бактерий, способных супрессировать эти мутации.

Из фенотипически диких клубеньков растения линий Р61 и Р63, выращенных в трёх различных почвах из Ленинградской области, было выделено более 200 бактериальных изолятов, которыми в аксеничных условиях (стерильные вегетационные микробоксы) повторно инокулировали растения тех же линий. Из образовавшихся наиболее крупных эффективных клубеньков были выделены в чистую культуру 34 отдельных штамма, предположительно способных к супрессии мутаций в генах *Sym25* и *Sym26*. Выделенный штамм 1TK341 подтвердил способность к супрессии *sym25* в моноксеничном эксперименте, а также способность к эффективной азотфиксации. Штаммы 1TK341 и RCAM1026, достоверно способных к супрессии мутации *sym25*, относятся к одному геновиду *S. R. leguminosarum*. Так же при сравнении геномов штаммов 1TK341 и 3BR352 со штаммом RCAM1026, оказалось, что они характеризуются бóльшим размером и обладают бóльшим количеством генов, отсутствующих у RCAM1026, которые, возможно, определяют их симбиотический фенотип. Также было обнаружено, что в эффективных клубеньках гороха линии Р63 (*sym26*) содержатся представители рода *Bacillus* (штамм 3BR351), что косвенно указывает на их роль в супрессии мутации *sym26* при совместной инокуляции с ризобиями.

**Благодарности:** работа поддержана грантами РФФ 17-76-30016 и 16-16-00118 и грантом РФФИ 18-34-00844

## ИНДИКАЦИЯ СОСТОЯНИЙ ПОЧВЕННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ ПОСТРОЕНИЯ ФРАКТАЛЬНЫХ МИКРОБИОМНЫХ ПОРТРЕТОВ

Пухальский Я.В.<sup>1,2</sup>, Воробьев Н.И.<sup>1</sup>, Лоскутов С.И.<sup>2</sup>, Пищик В.Н.<sup>3</sup>, Свиридова О.В.<sup>1</sup>, Пирмагомедов Р.С.<sup>4</sup>, Кожемяков А.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИСХМ, РФ, Санкт-Петербург – г. Пушкин, ш. Подбельского, 3; <sup>2</sup>ООО НПО «БиоЭкоТех», РФ, Санкт-Петербург, ул. Возрождения, 15; <sup>3</sup>ФГБНУ АФИ, Санкт-Петербург, Гражданский пр., 14; <sup>4</sup>РУДН, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6  
[puhalskyan@gmail.com](mailto:puhalskyan@gmail.com)

В процессе интенсификации и индустриализации земледелия, при излишней химизации земель сельскохозяйственного назначения, нарушается их буферная ёмкость, вследствие чего происходит дивергенция количества биогенных элементов и увеличение концентрации токсичных тяжелых металлов в почвах. Особое внимание здесь следует уделить повышению аккумуляции последних, поскольку они не являются эссенциальными элементами для биоты, в результате чего формируются техногенно нарушенные почвы, которые необходимо рекультивировать, для восстановления их нормальных биофильных и микробиологических циклов. Это относится к антропогенному загрязнению не только агрогенных или других типов почв из сельхозугодий, но и лесных.

Известно, что почва (почвенная экосистема) является крупнейшим депозитарием генетического материала, представленного разнообразием микробных сообществ (микробиомом). От согласованности их совместной деятельности в составе биосистем зависит скорость деструкции растительных остатков, трансформирующихся в гумусное вещество, определяющее плодородие и состояние оздоровительных процессов в почвах. Таким образом, образуется генно-метаболическая сеть микроорганизмов [1], сходная по своему принципу с телекоммуникационными сетями передачи информации и данных. Кроме этого, расширенный качественный и количественный состав микробных ассоциаций в педосфере способен противодействовать различным стрессам и отвечает за санацию почв от токсикантов и поллютантов.

Для анализа опосредованных связей между экологической нестабильностью, возникающей при флуктуации множественных стохастических параметров внешней среды, и уровнем техногенного загрязнения почв *in situ* предлагается, используя методы многофакторной математической статистики (дисперсионный, корреляционный, кластерный и факторный анализы), строить фрактальные портреты их микробиома [2], и оценивать по ним масштабы преобразовательных процессов, а также прогнозировать и намечать пути для их регуляции с поиском точек бифуркации и аттракторов.

### Список литературы:

1. Воробьев Н.И., Свиридова О.В., Попов А.А., Русакова И.В., Петров В.Б. Граф-анализ генно-метаболических сетей микроорганизмов, трансформирующих растительные остатки в гумусовые вещества // 2011, Сельскохозяйственная микробиология, №3, С.88-93.
2. Воробьев Н.И., Пищик В.Н., Проворов Н.А., Свиридова О.В. Возможности моделирования множественных стохастических воздействий внешней среды на микробно-растительные системы // 2014, Агрофизика, №4(16), С.35-41.

## ГЕНОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОГО ШТАММА *Sinorhizobium meliloti* AK555

Саксаганская А.С., Мунтян В.С., Лактионов Ю.В., Румянцева М.Л., Симаров Б.В.  
ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, г. Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, д. 3.  
[allasaksaganskaya@mail.ru](mailto:allasaksaganskaya@mail.ru)

*Sinorhizobium meliloti* AK555 – высокоэффективный штамм, выделенный из клубенька дикорастущего растения люцерны вида *Medicago falcata* на северо-западе Казахстана. Он формирует высокоэффективный симбиоз с разными сортами растений люцерны *Medicago sativa* подвида *varia* согласно данным географической сети опытов [1].

Геном штамма AK555 секвенирован с использованием методов высокопроизводительного секвенирования 2-го и 3-го поколения (MiSeq и MinION; [2]). Геном содержит хромосому SMc длиной 3 675 т.п.н., две мегаплазмиды SMA и SMb – 1 658 т.п.н. и 1 288 т.п.н., соответственно, а также две криптические плазмиды SMd и SME, размер которых составляет 31 и 442 т.п.н., соответственно.

В составе хромосомы выявлено два геномных острова, сходных по длине и количеству белок-кодирующих открытых рамок считывания (средняя длина 46 т.п.н.; среднее число ОРС 100). Острова ассоциированы с разными РНК (тРНК-Глу и тРНК-Лиз, соответственно) и предположительно имеют фаговое происхождение.

На симбиотической мегаплазмиде SMA локализованы гены *nodA*, *nodB* и *nodC*, детерминирующие синтез основной структуры сигнальной молекулы Nod-фактора, необходимой для взаимодействия с растениями-хозяевами. Проведен сравнительный анализ аминокислотных последовательностей продуктов *nodABC* генов штамма AK555 с таковыми у референс-штамма Rm1021. Аминокислотные последовательности продуктов генов *nodB* и *nodA*, кодирующих деацетилазу и ацилтрансферазу, детерминирующих деацетилирование Nod-фактора и присоединение остатка жирной кислоты, соответственно, были идентичны, тогда как гомология между аминокислотными последовательностями продукта гена *nodC* – N-ацетилглюкозаминилтрансферазы, детерминирующей длину молекулы Nod-фактора, составила 99%.

Последовательность генома *Sinorhizobium meliloti* AK555 депонирована в GenBank под номером PZMI00000000.

Данная работа выполнена при поддержке РФФ №17-16-01095 (секвенирование генома AK555) и РФФИ №17-04-02011a (анализ структуры симбиотических генов и симбиотических свойств штамма).

[1]. Юрков А.П. и др., 2017, Анализ симбиотической эффективности бактериальных и грибных препаратов на кормовых культурах по данным урожайности семян // Кормопроизв, № 3, сс. 16-21.

[2]. Muntyan V.S. et al., Draft Genome Sequence of *Sinorhizobium meliloti* AK555 // Microbiol Resour Announc, 2019, 8:e01567-18.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТАРЕНИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM L.*)

Серова Т.А.<sup>1</sup>, Цыганов В.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Россия, Санкт-Петербург, Пушкин 8, ш. Подбельского, 3, 196608

[t\\_serova@rambler.ru](mailto:t_serova@rambler.ru)

Исследование механизмов старения симбиотических клубеньков является актуальной задачей, поскольку управление процессом старения позволит увеличить период активной фиксации азота, что приведет к насыщению почвы биологическим азотом и повышению урожайности бобовых культур.

Целью данного исследования являлось выявление роли протеаз, транскрипционных факторов и фитогормонов в регуляции старения симбиотических клубеньков гороха.

В работе была использована серия симбиотических мутантов гороха (*Pisum sativum L.*), полученных на основе родительской линии SGE: SGEFix<sup>-1</sup> (*sym40*), SGEFix<sup>-3</sup> (*sym26*) и SGEFix<sup>-7</sup> (*sym27*), формирующие неэффективные рано стареющие клубеньки, и SGEFix<sup>-2</sup> (*sym33*), характеризующийся отсутствием морфологических признаков ранней деградации симбиотических структур.

В качестве ассоциированных со старением генов были выбраны гены цистеиновых (*PsCyp1*, *PsCyp15a*) и тиоловой (*PsTPP*) протеаз, ген фактора транскрипции bZIP (*PsATB2*), ген гиббереллин 2-β-оксидазы (*PsGA2ox1*), гены АЦК (1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты) синтетазы и оксидазы (*PsACS2*, *PsACO1*), ген альдегид оксидазы (*PsAO3*). С увеличением возраста клубеньков родительской и мутантных линий наблюдалось повышение уровня транскриптов генов, ассоциированных со старением, причем у всех мутантных линий оно индуцировалось раньше, чем у родительской линии.

С помощью лазерной микродиссекции были вырезаны инфицированные клетки различных зон клубеньков дикого типа SGE и рано стареющего мутанта SGEFix<sup>-7</sup> (*sym27*). С увеличением степени деградации клеток клубенька было показано повышение уровня экспрессии генов, ассоциированных со старением.

С помощью иммулолокализации биоактивной формы гиббереллинов и предшественника этилена, АЦК, было показано снижение содержания гиббереллинов и повышение содержания АЦК при старении клубеньков родительской и мутантных линий гороха.

Таким образом, была показана позитивная регуляция процесса старения симбиотического клубенька гороха этиленом и абсцизовой кислотой и негативная регуляция гиббереллиновой кислотой, а также активная роль в старении цистеиновых и тиоловой протеаз, а также фактора транскрипции bZIP. Показано, что неэффективность симбиотических клубеньков у мутантных линий ведет к активации индуцированного старения клубеньков.

Данная работа была выполнена при поддержке грантами РФФИ 14-24-00135 и РНФ 17-76-30016.

## ГЕНОМ МОДЕЛЬНОГО ШТАММА *Sinorhizobium meliloti* CXM1-105

Черкасова М.Е., Мунтян В.С., Румянцева М.Л., Симаров Б.В.

ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, г. Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского, д. 3.

[mariiacherkasova@mail.ru](mailto:mariiacherkasova@mail.ru)

Штамм *Sinorhizobium meliloti* CXM1-105 получен на основе эффективного производственного штамма 425а и, наравне со штаммом Rm1021, используется в качестве «референса» в молекулярно-генетических исследованиях и в опытах по изучению симбиотической активности [1]. Полногеномная последовательность штамма CXM1-105 получена с использованием высокопроизводительного секвенирования 2-го и 3-го поколения. Геном штамма состоит из хромосомы (SMc – 3 636 т.п.н.) и двух мегаплазмид (SMa – 844 т.п.н., SMb – 1 660 т.п.н.). Аннотация генома выполнена с использованием NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline. В результате выявлено 6 706 белок-кодирующих открытых рамок считывания, 3 рРНК оперона и 55 т/тмРНК [2].

Проведен направленный поиск геномных островов в хромосоме штамма CXM1-105. Выявлен один остров (далее Sme11K), который отличается по сайту встраивания, длине и внутренней структуре от островов штамма Rm1021 (GenBank AL591688) [2, 3]. Длина Sme11K составляет 10.9 т.п.н., а среднее содержание ГЦ-пар на 4.8% ниже такового в хромосоме. В составе острова выявлено девять открытых рамок считывания, семь из которых штаммоспецифичны и кодируют гипотетические белки (от 74 до 526 ак), а две, кодирующие протеазу и белок капсида бактериофага семейства *Siphoviridae* (НК97), выявлены и у других штаммов рода *Sinorhizobium*.

Последовательность генома *S. meliloti* CXM1-105 депонирована в GenBank под номером PZMJ000000000.

Данная работа выполнена при поддержке РФФ №17-16-01095 (секвенирование генома CXM1-105 и поиск островов) и РФФИ № 18-04-01278а (филогенетический анализ функционально значимых генов острова).

[1]. Румянцева М.Л. и др., Сравнительный анализ геномных характеристик у референтных штаммов *Sinorhizobium meliloti* – симбионтов люцерны // Сельскохозяйственный биологический журнал, 2017, Т. 52(5), сс. 928-939.

[2]. Baturina O.A. et al., Draft Genome Sequence of *Sinorhizobium meliloti* strain CXM1-105 // 2019, Microbiol Resour Announc, 8:e01621-18.

[3]. Румянцева М.Л. и др., Геномные острова штамма *Sinorhizobium meliloti* Rm1021 – азотфиксирующего симбионта люцерны // Генетика, 2018, Т.54(7), сс. 745-756.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАНТА ЛЮЦЕРНЫ ХМЕЛЕВИДНОЙ (*MEDICAGO LUPULINA L. SUBSP. VULGARIS KOCH*) ПО СИМБИОТИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ ПРИ ОБРАЗОВАНИИ МИКОРИЗНОГО СИМБИОЗА

Якоби Л.М.<sup>1</sup>, Железняков С.В.<sup>1</sup>, Сметанин Р.В.<sup>1</sup>, Лебедева В.К.<sup>1</sup>, Кожемяков А.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ ВНИИСХМ. Россия, г. Санкт-Петербург, 196608, Пушкин-8, ш. Подбельского, д. 3.  
[lidija-jacobi@yandex.ru](mailto:lidija-jacobi@yandex.ru)

Арбускулярная микориза (АМ) это ассоциация корней наземных растений (в основном трав и кустарников) и грибов отдела Glomeromycota, облигатных симбиотрофов. АМ оказывает положительное влияние на рост и фосфорное питание дикорастущих и сельскохозяйственных растений, в связи с чем, ее изучение имеет как научную, так и практическую значимость.

Для изучения механизмов участвующих в становлении эффективного микоризного симбиоза нами была выбрана в качестве объекта исследования сильномикотрофная однолетняя люцерна хмелевидная, образующая эффективный симбиоз с *Rhizophagus irregularis* на почве с низким содержанием доступного для питания растений фосфора (Рд). С помощью ЭМС мутагенеза был получен мутант люцерны, который на почве с низким Рд образует неэффективный симбиоз в ассоциации с *Rh. irregularis*. Так при выращивании мутанта на стерилизованной почве инокуляция АМ-грибом традиционным способом - микоризованными корнями плектрантуса, не влияла на накопление биомассы растений, а также на содержание в них фосфора и белкового азота. При этом микориза мутанта имела признаки дистрофности: мелкие тонкокожие везикулы, мелкие рыхлые арбускулы. В то же время для микоризы исходной линии люцерны были характерны крупные плотные арбускулы и крупные кожистые везикулы. По интенсивности микоризообразования мутант слабо отличался от исходной линии. На 42 сутки от посадки встречаемость (F) АМ в корнях мутанта была равна 38,5%, обилие арбускул (А) 1,9%, везикул (В) 1,2%, а у исходной линии - 30,2%, 6,2% и 1,0%, соответственно. С целью увеличения интенсивности микоризообразования и оценки влияния этого фактора на эффективность микоризного симбиоза у люцерны, был испытан прием инокуляции растений путем подсадки микоризованных проростков лука. Этот прием способствовал увеличению встречаемости АМ у мутанта до 84,2%, а у исходной линии до 52,5%. Однако увеличение интенсивности микоризообразования у мутанта не оказало существенного влияния на активность АМ – его продуктивность по надземной массе не отличалась от таковой у немикоризованных растений.

Таким образом, на люцерне хмелевидной получен мутант с признаками полукарликовости, образующий неэффективную микоризу арбускулярного типа в ассоциации с *Rh. irregularis*. Микориза мутанта имеет слаборазвитые арбускулы и везикулы. Эти признаки стабильно наследовались в ряду 3 – 12 поколений.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект №19-016-00197-а).

## РАЗНООБРАЗИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ *WOLBACHIA* И МТДНК В ПОПУЛЯЦИЯХ *POLYGRAPHUS PROXIMUS* BLANDFORD (COLEOPTERA; CURCULIONIDAE, SCOLYTINAE)

Быков Р.А.<sup>1</sup>, Деменкова М.А.<sup>1,2</sup>, Керчев И.А.<sup>3</sup>, Илинский Ю.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, 630090, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, 630090, ул. Пирогова, 1.; <sup>3</sup>Институт систематики и экологии животных СО РАН, Россия, Новосибирск, 630091, ул. Фрунзе, 11.

[bykovra@bionet.nsc.ru](mailto:bykovra@bionet.nsc.ru)

Уссурийский полиграф *Polygraphus proximus* Blandford является одним из наиболее опасных вредителей Сибирских хвойных лесов. Завезенный с Дальнего Востока вместе с древесиной, этот короед успешно распространился на новой территории из-за отсутствия у местных видов хвойных деревьев устойчивости к новому вредителю. Основными факторами, влияющими на популяционную динамику короедов, являются хищники, паразиты и болезни. На территории Сибири известны некоторые виды насекомых, питающихся или паразитирующих на *P. proximus*, однако их значимость в контроле численности вредителя крайне низка.

У некоторых видов короедов были выявлены симбиотические бактерии рода *Wolbachia*. Эти симбионты широко распространены у многих видов насекомых и могут существенно влиять на биологию своих хозяев. *Wolbachia* может выступать как в качестве мутуалиста, повышая плодовитость и жизнеспособность вида-хозяина и влияя на его метаболизм, так и являться репродуктивным паразитом, вызывая такие явления, как андроцид, феминизация самцов, цитоплазматическая несовместимость, партеногенез. В связи с этим *Wolbachia* рассматривается как возможный агент для биологического контроля численности вредителей. В данном исследовании мы осуществляем поиск у *P. proximus* симбиотической бактерии *Wolbachia*, даем молекулярно-генетическую характеристику и рассматриваем возможную связь симбионта с гаплотипами мтДНК вида-хозяина.

Материал для исследования (212 образцов) собран на территории Томской (152) и Сахалинской (60) областей. Выделение ДНК проводилось индивидуально из каждой особи, наличие *Wolbachia* определялось методом ПЦР. Характеристика изолятов *Wolbachia* проводилась по протоколу мультилокусного генотипирования. Для анализа гаплотипов мтДНК *P. proximus* были использованы универсальные праймеры к гену *COI* мтДНК насекомых.

Мы впервые показываем присутствие *Wolbachia* у *P. proximus*, инфицированность популяций в обоих регионах исследования составляет около 50%. Обнаружен только один уникальный вариант *Wolbachia*, который сонаследуется с гаплотипами мтДНК клады I. Дальнейшие исследования симбиотической системы *Wolbachia*-*P. proximus*, в частности, влияния симбионта на биологию хозяина, могут помочь в разработке новых подходов для контроля численности популяций вредителя.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ № 18-316-00099, № 19-04-00983 и № 18-34-20060.

## ПОДЗЕМНОЕ ГОРЕНИЕ УГОЛЬНЫХ ПЛАСТОВ ПОДДЕРЖИВАЕТ РАЗВИТИЕ СООБЩЕСТВА ТЕРМОФИЛЬНЫХ ВОДОРОД- ОКИСЛЯЮЩИХ ФИРМИКУТ

Кадников В.В.<sup>1</sup>, Марданов А.В.<sup>1</sup>, Ивасенко Д.А.<sup>2</sup>, Анциферов Д.В.<sup>2</sup>, Белецкий А.В.<sup>1</sup>,  
Карначук О.В.<sup>2</sup>, Равин Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

<sup>2</sup> Томский государственный университет, Томск

[vkadnikov@bk.ru](mailto:vkadnikov@bk.ru)

Исследования термофильных микроорганизмов, которые развиваются при экстремальных для обычной жизни температурах, расширили наши знания о разнообразии микроорганизмов и их эволюции, механизмов адаптации к условиям окружающей среды. Большинство исследований термофилов были сосредоточены на термальных экосистемах, связанных с вулканической активностью, таких как наземные горячие источники и глубоководные гидротермы, или с биотехнологически-значимыми антропогенными объектами. Необычным и практически неисследованным типом термальных экосистем являются районы подземного горения угольных пластов. Такие объекты достаточно распространены в природе, горение угля в них может продолжаться сотни-тысячи лет, что создает условия для развития термофильных микробных сообществ.

Мы исследовали микробные сообщества верхнего слоя грунта и битумного вещества в карьере с горящим под поверхностью углем, расположенным в Республике Алтай. Горение угля отмечалось на протяжении последних нескольких лет, т.е. экосистема является сравнительно молодой. Метагеномный анализ показал, что в сообществе доминируют всего несколько видов бактерий филума Firmicutes [1]. Определены геномы доминирующих видов микроорганизмов: «*Candidatus Carbobacillus altaicus*» AL32, *Brockia lithotrophica* AL31 и *Hydrogenibacillus schlegelii* AL33. Согласно геномным данным, *Ca. Carbobacillus altaicus* AL32 является аэробным гетеротрофом, тогда как *B. lithotrophica* AL31 является хемолитотрофным анаэробом, ассимилирующим CO<sub>2</sub> через цикл Кальвина. *H. schlegelii* AL33 - аэроб, способный как к росту на органических соединениях, так и к фиксации CO<sub>2</sub> через цикл Кальвина. Филогенетический анализ большой субъединицы RuBisCO из *B. lithotrophica* AL31 и *H. schlegelii* AL33 показал, что она относится к типу 1-Е. Все три вида бактерий могут получать энергию от аэробного или анаэробного окисления водорода, образующегося в результате подземного горения угля вместе с другими угольными газами. Мы предполагаем, что термофильные Firmicutes, чьи споры могут распространяться из их первоначальных геотермальных местообитаний на большие расстояния через атмосферу, являются первыми колонизаторами этой недавно образовавшейся термальной экосистемы. Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда.

[1] Kadnikov VV, Mardanov AV, Ivashenko DA, Antsiferov DV, Beletsky AV, Karnachuk OV, Ravin NV., Lignite coal burning seam in the remote Altai Mountains harbors a hydrogen-driven thermophilic microbial community // 2018, Sci. Rep., V. 8(1): 6730.

## ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ *WOX* И *KNOX* В РАЗВИТИИ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ КАК КОМПОНЕНТЫ КОНСЕРВАТИВНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ МОДУЛЕЙ РАСТЕНИЙ

Лебедева М.А., Азаракш М., Лутова Л.А.

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб. 7-9;

[mary\\_osipova@mail.ru](mailto:mary_osipova@mail.ru)

Эволюция растений сопровождается формированием новых регуляторных путей, контролируемых ключевые этапы вновь возникающих программ развития. Одним из примеров программы развития, возникшей в ходе эволюции растений относительно недавно, является формирование симбиотических клубеньков на корнях бобовых растений. Изучение регуляции развития клубеньков является важным для понимания эволюции процессов развития в целом, поскольку позволяет исследовать роль как компонентов, строго специфичных для регуляции клубенькообразования, так и роль эволюционно консервативных регуляторных систем, контролируемых разнообразные процессы развития у растений. Среди последних у растений описаны системы *WOX-CLAVATA (CLV)*, контролируемые активность меристем побега и корня, камбия, а также процессы эмбриогенеза. Ключевой компонент такого рода систем – ген семейства *WOX*, кодирующий транскрипционный фактор (ТФ), экспрессия которого регулируется с участием *CLV1*-подобного рецептора и лиганда - *CLE*-пептида. Мы изучили роль генов *WOX* в развитии симбиотических клубеньков, и показали, что ген *WOX5*, вовлечен в развитие симбиотических клубеньков [1]. Кроме того, исследование взаимосвязи между *WOX5* и компонентами системы авторегуляции, подавляющей образование избыточных клубеньков с участием *CLV1*-подобного рецептора и *CLE*-пептидов, показало, что экспрессия гена *WOX5* при клубенькообразовании зависит от *CLV1*-подобного гена [1].

Наряду с *WOX*, ТФ семейства *KNOX* регулируют разнообразные процессы развития у растений. В частности, в меристеме побега ТФ *KNOX* активируют экспрессию генов изопентинилтрансфераз (*IPT*), контролируемых биосинтез цитокинина. Мы показали, что в развитие клубенька также вовлечен ТФ *KNOX* — *KNOX3* [2]. Показано, что в формирующихся клубеньках ТФ *KNOX3* активирует экспрессию генов, ответственных за продукцию цитокинина, напрямую связываясь с регуляторными последовательностями генов *IPT* и *LOG*.

В целом, исследование участия ТФ *WOX* и *KNOX* в развитии симбиотических клубеньков позволило понять, что разнообразные программы развития растений контролируются с участием сходных механизмов. Полученные данные подтверждают идею о существовании эволюционно консервативных “регуляторных модулей”, в частности, таких как ТФ *KNOX* факторы и их гены-мишени, а также компоненты системы *WOX-CLV*, дивергенция которых сопровождается возникновением новых программ развития у растений.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-16-10011 и грантов РФФИ 14-04-00591-а, 15-34-20071.

[1]. Osipova et al. *WUSCHEL-RELATED HOMEBOX5* gene expression and interaction of *CLE* peptides with components of the systemic control add two pieces to the puzzle of autoregulation of nodulation // 2012, *Plant Physiology*, V. 158, P. 1329-1341

[2]. Azarakhsh et al. *KNOTTED1-LIKE HOMEBOX 3*: a new regulator of symbiotic nodule development. // 2015, *J Exp Bot.*, V. 66, P. 7181-95.

## ГЕТЕРОЛОГИЧНЫЙ СИНТЕЗ В КЛЕТКАХ НАСЕКОМЫХ РЕЦЕПТОРОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ УЗНАВАНИЕ РАСТЕНИЯМИ ХИТООЛИГОСАХАРИДНЫХ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ СИМБИОТИЧЕСКИХ И ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Павлова О.А.<sup>1</sup>, Леппянен И.В.<sup>1</sup>, Бовин А.Д.<sup>1</sup>, Вашурина М.А.<sup>1</sup>, Сендерский И.В.<sup>2</sup>,  
Долгих В.В.<sup>2</sup>, Долгих Е.А.<sup>1</sup>.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, г. Санкт-Петербург, Россия; ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, г. Санкт-Петербург, Россия  
[dobbi85@list.ru](mailto:dobbi85@list.ru)

Бобовые растения способны эффективно различать сигналы микроорганизмов, которые активируют внутриклеточные пути, ведущие к развитию симбиоза или патогенеза. Узнавание коротких хитоолигосахаридов (ХОС4–5), выделяемых грибами арбускулярной микоризы (АМ), приводит к развитию симбиоза. Напротив, рецепция длиномерных ХОС, выделяемые при расщеплении клеточной стенки фитопатогенных грибов, стимулирует развитие защитных реакций у растений при патогенезе. Как растения различают столь близкие по строению соединения, но вызывающие совершенно противоположные реакции, остается малоизученным. В результате проведенных нами исследований у гороха *Pisum sativum* L. была выявлена бифункциональная рецепторная киназа LYK9, которая может быть необходима для узнавания ХОС с разной степенью полимеризации. У трансгенных растений с подавленной экспрессией гена *Lyk9* (*Lyk9-RNAi*) увеличивалась чувствительность к фитопатогенному грибу *F. culmorum*, но, вместе с тем, снижалась способность активировать ответные реакции на узнавание индукторов развития симбиоза с грибами АМ – ХОС5. Мы предположили, что бифункциональность рецептора LYK9 может быть связана со способностью взаимодействовать с разными ко-рецепторами при узнавании отличающихся по степени полимеризации ХОС. Среди возможных кандидатов был выявлен рецептор LYR4. Для изучения механизмов работы рецепторов был осуществлен их синтез в гетерологичных системах и проведен анализ связывания с ХОС5 и ХОС8, а также изучено взаимодействие рецепторов с помощью метода иммунопреципитации.

Для наработки рекомбинантных белков использовали бакуловирусную систему экспрессии в клетках насекомых. Последовательности, кодирующие внеклеточные домены рецептор-подобных киназ LYK9 и LYR4, были клонированы в векторе pFastBac под полиэдриновым промотором, обеспечивающим высокий уровень экспрессии. После встраивания в бакмиду клеток *E. coli* DH10Bac, проводили трансфекцию культуры клеток насекомых Sf9 бакмидой с помощью липосомального реактива CellfectinII. Культуральную жидкость, содержащую вирионы, использовали для получения следующего поколения рекомбинантных бакуловирусов с повышенным титром вирусных частиц. Анализ содержания рекомбинантных белков в клетках насекомых проводили после пассирования третьего (LYR4) и четвертого (LYK9) поколения бакуловирусов с помощью Вестерн-блот гибридизации с анти-HIS антителами. Обсуждаются результаты анализа связывающей способности и взаимодействия рецепторов, полученных в клетках насекомых.

**Благодарности:** Работа была выполнена при поддержке гранта РФФ 16-16-10043 и 18-16-00054.

## НОВЫЕ ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ, КОДИРУЮЩЕМ ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР CYCLOPS/IPD3 У *PISUM SATIVUM*

Цыганова А.В.<sup>1</sup>, Селивёрстова Е.В.<sup>1,2</sup>, Иванова К.А.<sup>1</sup>, Brewin N.J.<sup>3</sup>, Цыганов В.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Россия, 196608, Санкт-Петербург, Пушкин-8, ш. Подбельского 3

<sup>2</sup>Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Россия, 194223, Санкт-Петербург, пр. Гореза 44

<sup>3</sup>John Innes Centre, Norwich Research Park, Norwich NR4 7UH, UK  
[isaakij@mail.ru](mailto:isaakij@mail.ru)

Мутант *Pisum sativum* SGEFix<sup>-</sup>2 несет аллель *sym33-3* гена *Sym33*, кодирующего ключевой транскрипционный фактор в развитии клубеньков – PsCYCLOPS/PsIPD3. Мутант проявляет «leaky» фенотип, формируя белые клубеньки с «запертыми» инфекционными нитями, при этом в некоторых клубеньках в отдельных клетках возможен выход бактерий из инфекционных капель. Более того у мутанта могут формироваться розоватые клубеньки с недифференцированными бактериоидами. Ранее в клубеньках с «запертыми» инфекционными нитями были выявлены сильные защитные реакции в виде отложений дезэтерифицированного пектина и суберина в клеточных стенках и в стенках инфекционных нитей. В данном исследовании были выявлены новые проявления защитных реакций в белых клубеньках, в которых происходил выход бактерий. Материал клеточной стенки откладывался вокруг вакуоли в неинфицированных клетках, в клетках, содержащих инфекционные нити и в инфицированных клетках. Отложения вокруг вакуоли несли метку моноклональных антител: JIM7, распознающего высоко метил-этерифицированный гомогалактуронан, и LM5, узнающего линейную (1–4)-β-D-галактановую боковую цепь рамногалактуронана I, но они не метились JIM5, специфичного для дезэтерифицированного гомогалактуронана. Выявленный состав пектиновых компонентов отложений предполагает, что они содержат вновь сформированный материал клеточной стенки. Было показано, что отложения сопровождалось накоплением суберина. Это первый случай, когда защитные реакции в неэффективных клубеньках проявляются в виде отложений материала клеточной стенки вокруг вакуоли. Также рамногалактуронан I выявлялся в матриксе некоторых инфекционных нитей как компонент пектинового геля, ограничивающего движение бактерий. Еще одним новым проявлением мутации *sym33-3* было формирование гипертрофированных инфекционных капель, занимающих значительный объем клетки.

Аллель *sym33-2* у мутанта SGEFix<sup>-</sup>5 была описана как строгая аллель, тем не менее, ее фенотипические проявления не были детально изучены. В данном исследовании в клубеньках наблюдались «запертые» инфекционные нити, из которых не происходил выход бактерий в цитоплазму растительной клетки. При этом в некоторых нитях наблюдалась деградация бактерий, что указывает на активацию сильных защитных реакций в клубеньках мутанта SGEFix<sup>-</sup>5.

Эти наблюдения предполагают, что важной функцией транскрипционного фактора CYCLOPS/IPD3 является подавление защитных реакций во время установления бобово-ризобияльного симбиоза.

Работа была поддержана грантом РФФ 16-16-10035

## GENETIC MECHANISMS UNDERLYING THE PROCESS OF COLONIZATION OF PEA BY NODULE BACTERIA AND ARBUSCULAR-MYCORRHIZAL FUNGI

Shtark O.Y.<sup>1</sup>, Zhernakov A.I.<sup>1</sup>, Kitaeva A.B.<sup>1</sup>, Afonin A.M.<sup>1</sup>, Kulaeva O.A.<sup>1</sup>, Kliukova M.S.<sup>1</sup>, Fedorina J.V.<sup>1</sup>, Sulima A.S.<sup>1</sup>, Avdeeva G.S.<sup>2</sup>, Akhtemova G.A.<sup>1</sup>, Tsyganov V.E.<sup>1</sup>, Winter P.<sup>3</sup>, Tikhonovich I.A.<sup>1,2</sup>, Zhukov V.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Russia, Saint-Petersburg, Pushkin, Podbelskogo sh. 3; <sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, Faculty of Biology, Russia, Saint-Petersburg, Universitetskaya Emb. 7-9; <sup>3</sup>GenXPro GmbH, Germany, Frankfurt am Main, Altenhöferallee 3

oshtark@yandex.ru

Legumes, including pea (*Pisum sativum* L.), develop mutually beneficial symbioses with nitrogen-fixing nodule bacteria (rhizobia) and arbuscular-mycorrhizal (AM) fungi, which form special symbiotic structures in the root cells. Root penetration and accommodation of the microorganisms inside the roots are regulated by symbiotic plant genes [1]. For *P. sativum*, an extensive collection of symbiotic mutants has been created, but the causal genes for a large portion of the mutations are still not identified due to the complexity of the task [2, 3]. This study was aimed to clarifying the role of pea symbiotic genes *Sym11*, *Sym14* and *Sym36* in the formation of infectious structures and the search for specific features of the functioning of these genes in symbiosis with rhizobia and AM fungi. Using both light and confocal microscopy, phenotypic characterization of a series of the pea mutants has been significantly improved. All the three genes were shown to be responsible for the microbial penetration through rhizodermal cells. An accurate genetic mapping of the *Sym11* and *Sym14* pea genes was performed. A tight linkage of the *Sym14* gene with a marker created on the basis of the symbiotic *Cerberus* gene sequence was revealed. The *Sym11* gene was first localized in the linkage group I. The Mapping-By-Sequencing approach including bulk segregant analysis and Massive Analysis of cDNA Ends (MACE-Seq) sequencing technology were used, along with the traditional method. As a result, it was established that the *Sym11* pea gene is a homologue of the symbiotic *Medicago truncatula* *IPD3* gene. The homology of the *Sym36* gene with the *M. truncatula* *VAPYRIN* gene was confirmed. Differential expression of plant genes in the roots of the studied pea mutants and the corresponding parental lines was analyzed 14 days after inoculation with AM fungi and rhizobia. In particular, transcriptome analysis (MACE) of the roots of two pea mutants in *Sym36* gene was carried out. Most of the genes consistently changed expression in both *sym36* mutants and parental line on this stage of the symbioses development, while a number of genes altered expression only in the mutant lines. Differences were found in the expression of these genes during the two types of symbioses development.

[1]. Genre A., Russo G., Does a common pathway transduce symbiotic signals in plant–microbe interactions? // 2016, Front. Plant Sci., V.7, Article 96.

[2]. Borisov A.Y., Danilova T.N., Koroleva T.A. et al., Pea (*Pisum sativum* L.) regulatory genes controlling development of nitrogen-fixing nodule and arbuscular mycorrhiza: fundamentals and application. // 2004, Biologia, V.59, P.137–144.

[3.] Zhukov V.A., Shtark O.Y., Nemankin T.A. et al., Genetic mapping of pea (*Pisum sativum* L.) genes involved in symbiosis. // 2016, Agricultural biology, V.51, N.5, P.593–601.

**Acknowledgements:** This work was supported by the grant of the Russian Science Foundation (17-76-30016).

## ПОГЛОЩЕНИЕ ФОСФОРА И УГЛЕВОДНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ *Medicago lupulina* ПРИ ОБРАЗОВАНИИ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ С *Rhizophagus irregularis* В УСЛОВИЯХ НИЗКОГО УРОВНЯ ФОСФОРА В СУБСТРАТЕ

Юрков А.П.<sup>1,2</sup>, Крюков А.А.<sup>1</sup>, Горбунова А.О.<sup>1,2</sup>, Шишова М.Ф.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия, 196608, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, ш. Подбельского, д. 3

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7-9

[yurkovandrey@yandex.ru](mailto:yurkovandrey@yandex.ru)

Арбускулярная микориза (АМ) является широко распространенным симбиозом в природе. В ее образовании участвуют грибы подотдела Glomeromycotina и более 92% семейств наземных растений. АМ способствует минеральному питанию растений, увеличивая поступление в первую очередь фосфора. В свою очередь растение-хозяин отдает АМ-грибу до 20% фотосинтетически ассимилированных углеводов. Механика этих процессов недостаточно изучена. В связи с этим целью настоящего исследования было изучить экспрессию ключевых генов углеводного метаболизма и транспорта фосфора у сильно микотрофной линии люцерны хмелевидной (*Medicago lupulina*) при образовании арбускулярной микоризы с АМ-грибом *Rhizophagus irregularis* в условиях низкого уровня доступного для питания растений фосфора в субстрате. Для поиска последовательностей маркерных генов и праймеров к ним были использованы данные транскриптомного анализа *M. lupulina*, полученные ранее в рамках гранта РФФИ №16-16-00118 и данные открытого доступа из транскриптома люцерны слабоусеченной (*M. truncatula*; <https://www.uniprot.org/>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>). Проведена оценка работы подобранных праймеров и выбраны наиболее эффективные. В дальнейший анализ уровня экспрессии на различных этапах онтогенеза растения-хозяина включены следующие 10 генов: *hexokinase 1*, *phosphate transporter 1*, *phosphate transporter 2*, *phosphate transporter 4*, *sucrose synthase*, *sucrose synthase 2*, *sucrose/H<sup>+</sup> symporter*, *RuBisCO*, *ATPase 1*, *sugar transport protein 13-like*. В качестве референсного гена использован ген актина. Проводится оценка экспрессии генов. Результаты биохимических анализов параметров фотосинтеза и содержания фосфора в тканях люцерны хмелевидной в сравнении с контролем без АМ свидетельствуют о существенном влиянии АМ-гриба *Rhizophagus irregularis* (шт. RСАМ00320) на поглощение фосфора и углеводный метаболизм у растений *Medicago lupulina* линии MIS-1 в условиях низкого уровня фосфора в субстрате.

Благодарности. Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ-а №18-016-00220, гранта РФФИ №16-16-00118 и государственного задания № 0664-2016-0006 согласно пункту программы ФНИ государственных академий наук на 2013-2020 гг. по направлению исследований «Х 10.2. Земледелие 144». Часть работы выполнена на оборудовании ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ и Ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

**Симпозиум XIII: Редактирование генома / Symposium XIII: Genome Editing****ИНДУКЦИЯ БОРОДАТЫХ КОРНЕЙ ТАБАКА ПУТЕМ  
БИОБАЛЛИСТИЧЕСКОЙ ДОСТАВКИ *ROL*-ГЕНОВ И CRISPR/CAS  
КОМПОНЕНТОВ**

Гумерова Г.Р., Кулуев Б.Р., Чемерис А.В.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (ФГБНУ ИБГ УФИЦ РАН),

Россия, Уфа, Адрес: г.Уфа, пр. Октября, 71

[gulnar.yas@mail.ru](mailto:gulnar.yas@mail.ru)

CRISPR/Cas9 – это новая технология редактирования геномов высших организмов, основанная на механизме адаптивного иммунитета бактерий и архей. Благодаря направленной модификации целевых генов эта методика является перспективной тенденцией в современной генной инженерии и биотехнологии. Все возрастающая актуальность CRISPR/Cas технологий обусловлена возможностью придавать различные хозяйственно-полезные признаки ценным видам растений, которые традиционными селекционными методами достичь невозможно, либо имеются другие сложности в реализации. Одной из таких проблем в генной инженерии и биотехнологии является разработка универсального метода индукции бородастых корней (hairy roots) у хозяйственно-ценных видов растений, которые трудно поддаются классической *A. rhizogenes*-опосредованной трансформации. Предлагаемый нами подход направлен на преодоление главных недостатков уже существующих методик: сложность получения стерильной культуры и большая зависимость эффективности трансформации от штамма *A. rhizogenes* и вида инфицируемого растения. Более того, методы агробактериальной трансформации в основном подходят только для двудольных растений, тогда как у однодольных и голосеменных растений такими способами получить бородастые корни весьма затруднительно и чаще всего невозможно. В связи с этим логичным решением данной проблемы является необходимость использования других более универсальных подходов, подразумевающих прямой перенос генов без участия *A. tumefaciens* и *A. rhizogenes*. Одним из таких перспективных методов генетической модификации без участия агробактерий может стать биобаллистическая трансформация *rol*-генами с добавлением CRISPR-векторов, что поможет обеспечить преимущественное встраивание трансгенов в строго заданном месте генома. В связи с этим была поставлена цель внедрения *rol*-генов в геном модельного растения табака с применением системы CRISPR/Cas9 в нокин-варианте. Данная технология для внедрения последовательности *rol*-генов размером более 5 kb и индукции бородастых корней использована впервые. Для решения поставленной задачи были выбраны CRISPR-векторы, содержащие ген эндонуклеазы Cas9 и гидовую РНК для гена фитоендесатуразы табака (*PDS*). Для биобаллистической трансформации использовали ампликон *rol*-генов, фланкированный с двух сторон участками гена *PDS* табака размером 35 п.н., которыми бомбардировали листовые диски табака. Ожидается получение бородастых корней табака благодаря экспрессии встроенных в кодирующую часть гена *PDS rol*-генов.

## Симпозиум XIV: Дифференцировка и стволовые клетки /Symposium XIV: Stem Cells and Differentiation

### АПОПТОЗ КАК ПУТЬ СТАБИЛИЗАЦИИ ХРОМОСОМНОГО НАБОРА СИСТЕМЫ КЛЕТОК АПИКАЛЬНЫХ МЕРИСТЕМ

Козак М.Ф.

Астраханский государственный университет. Россия. Город Астрахань, ул. Татищева, 20а  
[mkozak@yandex.ru](mailto:mkozak@yandex.ru)

Апикальные меристемы (АМ) растений выполняют функцию центров органогенеза. Поскольку органы растений образуются в течение всего жизненного цикла, новым подходом является то, что АМ имеют в своем составе популяцию стволовых клеток. Нестабильность хромосомного набора клеток АМ во многих случаях сопровождается появлением микроядер. Нами проведены многолетние исследования [1] АМ почек тополя черного (*Populus nigra* L.) на содержание микроядер в условиях высокой антропогенной нагрузки вблизи новой автомагистрали и тех же деревьев до ее появления. Растения чутко реагировали на изменение условий местообитания повышением вероятности встречаемости клеток с микроядрами в АМ побегов с уровня  $p=0.02$  до  $0.07-0.08$ . При этом линии клеток, имеющие повышенное число микроядер, закономерно снижают митотическую активность (М). В дальнейшем уровень «микроядерности» клеток АМ тех же деревьев постепенно снизился до вероятности  $p=0.02-0.03$  вследствие постепенной элиминации клеток с микроядрами в результате естественных адаптационных процессов. Подобные закономерности наблюдаются в АМ зародышевого корня *Glycine* L. [2], *Allium cepa* L. [3]. Цитологические картины образования микроядер в АМ растений опубликованы нами в предыдущих работах [1, 2, 3 и других]. В этих случаях развиваются события, характерные для апоптоза. Начало процесса характеризуется выбросом хромосом или их фрагментов за пределы митотического аппарата с образованием везикул, окруженных мембранами. Ядро клетки фрагментируется, постепенно формирует «лопасти», которые отделяясь, образуют микроядра различной величины, формы и количества. Как правило, они сформированы из весьма конденсированного структурного хроматина. Образование микроядер отмечено нами и при отсутствии деления клеток АМ, в интерфазе. Митотическое и немитотическое образование микроядер есть путь устранения генетически поврежденного хроматина. Элиминация клеток с поврежденным хроматином стабилизирует хромосомный набор АМ побега и зародышевого корня. Таким образом, апоптоз есть путь стабилизации хромосомного набора всей системы АМ. Этот механизм может запускаться различными сигналами внешней и внутренней среды (не обязательно мутагенными), но связанными с нехваткой факторов роста и выживания, повреждениями ДНК, разрушениями цитоскелета, гипоксией, ингибиторами и стимуляторами деления клетки. Это свидетельствует о существовании весьма тонкой и эффективной регуляции постоянства хромосомного набора АМ.

1. Козак М.Ф. (2002). Исследование состояния воздушной среды различных районов г. Астрахани с помощью микроядерного тестирования // *Естественные науки*. Астрахань. №. 4. С. 13- 20
2. Козак М.Ф. (2004). Вопросы эволюционной морфологии и цитогенетики сои. Астрахань: Астрах. ун-т. 160 с.
3. Козак М.Ф. (2008). Цитогенетические эффекты воздействия антропогенного загрязнения вод Нижней Волги. /Козак М.Ф., Марченко Н.В. Астрахань: Астрах. ун-т. 116 с.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСДУКЦИИ ФИБРОБЛАСТОВ ЛАСТОНОГИХ ИНТЕГРАТИВНЫМИ И НЕИНТЕГРАТИВНЫМИ ВИРУСНЫМИ ВЕКТОРАМИ

Мензоров А.Г.<sup>1,2</sup>, Беклемишева В.Р.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева 10, 630090; <sup>2</sup>ФГАОУВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова 1, 630090; <sup>3</sup>ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева 8/2, 630090

[menzorov@bionet.nsc.ru](mailto:menzorov@bionet.nsc.ru)

Одно из ключевых событий в биологии развития – получение в 2006-2007 гг. индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) мыши и человека. ИПСК стали удобными инструментами для изучения плюрипотентности и раннего эмбрионального развития. В литературе описано получение ИПСК собаки (*Canis lupus familiaris*) и снежного леопарда (*Panthera uncia*), представителей отряда Carnivora. Ранее мы получили ИПСК американской норки (*Neovison vison*). Целью данного исследования был поиск условий для репрограммирования фибробластов ластоногих, представителей каноидной (Caniformia) ветви Хищных с консервативными геномами. Для получения ИПСК ранее были использованы различные системы доставки репрограммирующих транскрипционных факторов: РНК, белки, плазмиды, векторы на основе вирусов и другие. Для клеток мыши и человека наиболее эффективные системы доставки основаны на использовании различных типов вирусных векторов. Мы сравнили две системы доставки репрограммирующих факторов: встраивающиеся в геном лентивирусный вектор, LeGO-G2, и вектор на основе вируса Сендай, CytoTune EmGFP Sendai Fluorescence Reporter. Преимущества векторов на основе вируса Сендай по сравнению с лентивирусами – отсутствие встройки в геном. Проведено тестирование доставки флуоресцентного белка на культурах фибробластов 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*). В качестве контроля были также трансдуцированы фибробласты американской норки (*Neovison vison*), человека (*Homo sapiens*) и мыши (*Mus musculus*). Мы показали, что система трансдукции на основе вируса Сендай обеспечивает уровень экспрессии трансгена на один-два порядка выше, чем при использовании лентивирусов при сходном числе вирусов на клетку. Кроме того, экспрессия трансгена при использовании вектора на основе вируса Сендай достаточно стабильна и незначительно изменяется на четвертый день трансдукции по сравнению со вторым днем. Полученные данные позволяют предположить, что трансдукция фибробластов ластоногих с помощью вируса Сендай предпочтительна для получения ИПСК ластоногих.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-04-00644. Часть работы проведена на базе ЦКП «Коллекция плюрипотентных культур клеток человека и млекопитающих общепедагогического и биомедицинского направления» ФИЦ ИЦиГ СО РАН (<http://ckp.icgen.ru/cells/>). Использованы первичные культуры фибробластов ластоногих из Коллекции культур клеток общепедагогического назначения (№0310-2016-0002) отдела разнообразия и эволюции геномов ИМКБ СО РАН.

**Симпозиум XV: Селекция и биотехнология животных / Symposium XV:  
Animal Biotechnology and Breeding****ЭКСПРЕССИЯ РЕПОРТЕРНОГО ГЕНА В РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ У  
МЛЕКОПИТАЮЩИХ И РЫБ**

Полтева Е.А., Козикова Л.В.

*Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», Россия, Санкт-Петербург-Пушкин. Московское шоссе, 55a  
[kelin.liselse@yandex.ru](mailto:kelin.liselse@yandex.ru)*

Репортерный ген зеленого флуоресцентного белка (GFP) позволяет прижизненно изучать экспрессию в течение всего онтогенеза. На примере предимплантационных зародышей коров, полученных *in vitro*, эмбрионов и личинок рыбки *Danio rerio* был изучен паттерн экспрессии GFP гена у трансгенных зародышей. Эффективность трансгенеза у с/х животных очень низка (до 2%), поэтому получение трансгенных коров является сложным и дорогостоящим процессом. Зиготы были получены из ооцит кумулюсных комплексов после созревания и оплодотворения *in vitro*. После центрифугирования в них инъецировали вектор рСХ-eGFP, кодирующий ген GFP под контролем промотора  $\beta$ -актина. Экспрессию наблюдали через 168 часов культивирования у 5 из 101 эмбриона. 2 морулы были полностью трансгенны, а остальные были мозаиками.

В икру *Danio rerio* в область бластодиска через 20 минут после оплодотворения проводили инъекцию генетических конструкций, таких как рСХ-eGFP и рСЕЕGFP. У большинства эмбрионов (от 80 до 88%) экспрессия флуоресцентного гена наблюдалась на четвертые сутки развития и только около 30% эмбрионов имели мозаичный паттерн экспрессии на вторые сутки развития. В единичных случаях после микроинъекции рекомбинантной плазмиды рСЕЕGFP наблюдали экспрессию этого гена на стадии эпиболии. В отличие от млекопитающих, у рыб все эмбрионы и личинки имели мозаичный паттерн экспрессии. Очевидно, что этот феномен связан с тем, что плазида, попадая в желток, поступает в эмбрион на более поздних стадиях развития, минуя первый раунд репликации ДНК. Наиболее часто локализация зоны флуоресценции располагалась в области пищеварительной системы, а также в отдельных кластерах миоцитов и эпителиальных клеток.

Таким образом, репортерные гены позволяют отбирать трансгенные эмбрионы перед трансплантацией, с другой стороны, полученные эмбрионы часто имеют мозаичный паттерн экспрессии. Для создания полностью трансгенных особей необходимо скрещивание потомков или клонирование с использованием модифицированных клеток.

Работа выполнена по госзаданию. № госрегистрации АААА-А18-118021590132-9

## СТРУКТУРА ЯДРЫШКОВОГО ОРГАНИЗАТОРА В ГЕНОМЕ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ

Соколовская А.А.<sup>1</sup>, Дёмин А.Г.<sup>1,2</sup>, Сайфитдинова А.Ф.<sup>1</sup>, Галкина С.А.<sup>1</sup>, Гагинская Е.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, РФ, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, 199034; <sup>2</sup>Саратовский государственный медицинский университет, РФ, Саратов, 410012.

*In.Yan.2010@yandex.ru*

У эукариот гены 18S, 5,8S и 28S рибосомных РНК расположены на хромосомах в районе ядрышкового организатора (ЯОР). Эти три гена собраны в кластер, и многократно повторенные кластеры разделены межгенными спейсерами (IGS), содержащими регуляторные элементы для РНК-полимеразы I. Структуру ЯОР отличает высокая вариабельность на видовом и индивидуальном уровнях: в состав ЯОР может входить разное число повторяющихся единиц (кластер генов рРНК + IGS), последовательности повторов также могут различаться. Из-за высокой повторяемости и значительного размера повторяющейся единицы, полная расшифровка ЯОР остается сложной задачей, несмотря на современные обширные исследования геномов. В настоящее время полная структура ЯОР не расшифрована ни для одного вида, в том числе и для домашней курицы.

Нами был использован биоинформатический подход, позволивший оценить число повторов (копийность) рДНК у особей-представителей двух видов рода *Gallus* и двух пород *G. g. domesticus*. Значение копийности на гаплоидный геном составило: 85 копий для *Gallus varius*, 59 для *G. gallus*, 74 для индонезийской породы «кеду хитам», и 102 для американской породы «черная ява».

Чтобы определить консенсусную последовательность IGS курицы, мы секвенировали ВАС-клон WAG137G04, содержащий фрагмент ЯОР *G. gallus*, на платформах Illumina и PacBio. ВАС-клон включал три кластера генов рРНК и три полные последовательности IGS. Мы установили, что, как и в геномах карпа, ксенопуса, мыши и человека, последовательность IGS курицы обогащена ГЦ нуклеотидами (65%) и содержит 3 блока внутренних повторов и две области, представленные уникальными последовательностями. Мы охарактеризовали несколько новых тандемных повторов, образующих высокоорганизованные структуры. Подобная организация IGS никогда не наблюдалась у других видов. Длина IGS варьирует от 15170 п.н. до 22627 п.н., при этом вариации длины второго блока повторов вносят наибольший вклад в различия длин IGS. Выравнивание трех кластеров рДНК позволило идентифицировать вставки/делеции и нуклеотидные замены в генах 18S, 5,8S и 28S и прилегающих спейсерных элементах. Наиболее консервативная последовательность у гена 5,8S, наиболее вариабельная - у 5'ETS.

Выявленные нами варианты указывают на существующую гетерогенность рДНК в геноме курицы.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 16-04-01823а), а также ресурсных центров Научного парка СПбГУ «Хромас» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

## МЕТОД ОТБОРА КОРОВ И БЫКОВ НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К МАСТИТУ ПО КОЛИЧЕСТВУ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В МОЛОКЕ

Болгов А.Е., Комлык И.П., Гришина Н.В., Скрипникова И.Н.

*Петрозаводский государственный университет, Россия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33*

*bolg@petsu.ru*

В качестве маркера и индикатора мастита (воспаления вымени) у коров использовали количество соматических клеток (КСК) в молоке, генетически связанное с заболеванием. В процессе разработки метода исследовали КСК в 8452 индивидуальных пробах молока коров айрширской породы. Для определения количества соматических клеток в молоке использовали метод инфракрасной спектроскопии. Показано, что абсолютное КСК в молоке отличается очень высокой изменчивостью (289,1%) при огромном лимите (от 2,0 до 9999,0 тыс./см<sup>3</sup>). Частота распределения коров по этому признаку характеризуется большой положительной асимметрией, средняя арифметическая ( $\bar{X}$ ) намного больше медианы ( $Me$ ), которая в свою очередь больше, чем мода ( $Mo$ ), что не соответствует критериям нормального распределения и исключает возможность использования абсолютного КСК при отборе животных. Для нормализации признака и придания ему свойств пригодности к селекционным процедурам проведена трансформация абсолютного КСК в балльную оценку с использованием двоичного логарифма. Средняя величина балла по выборке была равна 2,30. Перевод признака в балльную оценку позволил получить распределение коров, близкое к нормальному, обеспечить однородность его дисперсии в различных выборках (по лактации, среди коров стада, среди дочерей быков и др.). Поэтому логарифмированная балльная оценка КСК пригодна для расчета критериев отбора животных и взята за основу при разработке рассматриваемого метода. На основе разработанной шкалы быки и коровы распределяются по уровню резистентности к маститу в зависимости от величины балла за КСК в молоке. Производителей аттестуют по показателям дочерей за первую лактацию. Рекомендована специальная компьютерная программа для расчетов логарифмированных баллов за КСК в автоматическом режиме. Быки (по дочерям) и коровы с оценкой 3,9 балла и менее аттестуются как высокорезистентные и могут использоваться без ограничений, 4,0-4,9 балла – нормальный уровень резистентности и небольшие ограничения в использовании, 5,0-5,9 балла – резистентность ниже среднего уровня и использование в товарной группе стада, 6,0 баллов и более – низкая резистентность, при которой коровы и быки подлежат выбраковке. Представленный метод Федеральной службой по интеллектуальной собственности оценен как изобретение, которое зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 6 июля 2018 г. Авторы получили Патент на изобретение № 2660574 с приоритетом 15 февраля 2017 г.

## CLONAL BIOTECHNOLOGICAL SERICULTURE

Klymenko V.V.<sup>1</sup>, Zabelina V.A.<sup>2</sup>, Tamura T.<sup>3</sup>, Sehna F.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Developmental Biology, Russia, Moscow 119334;* <sup>2</sup>*Biology Centre CAS, 370 05 České Budejovice;* <sup>3</sup>*National Institute of Agrobiological Sciences, Japan, Tsukuba, Ibaraki 305-8634*  
[silkway@rambler.ru](mailto:silkway@rambler.ru)

Experimental female (partheno)cloning in the silkworm (Astaurov, 1936) now successfully enters sericulture and biotechnology through effective artificial reproduction and skilled transgenesis. “Dolly-paraclones” obtained through the nuclear transfer cannot be used for organism copying and hence for successful settlement of one-genome-populations in a series of successive generations. Remember also low efficiency of the procedure and abnormalities found in the surviving individuals. The cloning with Astaurov thermic method is ensured by the absence of crossing-over in silkworm oogenesis and by thermal suppression of the first meiotic division, the whole chromosome set of the mother remaining unchanged and undergoes only equational division identical to mitosis. The first and subsequent clonal parthenogenetic generations start their “mitotic” development from the same genome of the mother-founder. Some clones with ca 100% reproducibility have passed in the collection (V. Klymenko) more than 100 generations during the last 40-50 years and its genetic and phenotypic characteristics remain stable.

Techniques and rules of “parthenogenetics”, which had been found by genetic marker analysis of different ways of artificial reproduction, will endow the silkworm clones under construction with characters of large-scale biotechnological reactors to produce genetically standardized traditional or gene-engineered target products [3]. The first transgenic silkworm clones have been recently established [1, 2]. Bisexual transgenic strains can also be easily transformed to transgenic clones (2009) and further corrected. The reverse is also possible.

The “clonal bridge” to silkworm gene engineering can greatly accelerate the optimization processes before using constructed transgenic clone as bioreactor; due to;

1. Settlement of a stable transgenic clone already in the daughter progeny of the DNA recipient;
2. Homozygotization (if needed) of any gene or transgene in two steps without outcrossing;
3. All steps in preparing the bioconstruct can be conserved (fixed) in the clones and used repeatedly in different ways to reach the desirable result (output of the target products);
4. Polyploids and some mutant or hybrid female forms in the silkworm, which are scarcely bisexual but may be more productive, now can be used as transgenic clonal producers.
5. Robotization of cloning that is quite possible and will crucially simplify the whole sericulture.
6. Year-round working clonal bioreactors.

In 1972 Astaurov obtained the first parthenoclone with 100% reproducibility; since then all hereditary factors that had determined this maximal capability for thermal cloning are accumulated and conserved in the single genome. We have created unique parthenozygotic laboratory population where studies on identification, isolation and functions of the clonality genes will be carried out by modern molecular genetic methods to extend experimental cell-genome parthenocloning to other animals.

[1]. Zabelina V., Klymenko V., Genome engineering and parthenocloning in the silkworm, *Bombyx mori*. // 2015, *J. Biosci.* V.40, P.645-55.

[2]. Zabelina V., Uchino K., Construction and long term preservation of clonal transgenic silkworms using a parthenogenetic strain. // 2015, *J Insect Physiol.*, V.81. P.28-35.

[3]. Zabelina V., Yonemura N., Standardization of Products of Biotechnological Sericulture by Parthenocloning and Cryobanking of Transgenic Clonal Silkworms. // 2018, 21st Europ. Biotech. Congr., P.24.

## ГЕТЕРОХРОМАТИНОВЫЕ РАЙОНЫ В ХРОМОСОМАХ ЯПОНСКОГО ПЕРЕПЕЛА

Кулак М.М.<sup>1</sup>, Комиссаров А.С.<sup>1</sup>, Демин А.Г.<sup>2</sup>, Фийон Валери<sup>3</sup>, Сайфитдинова А.Ф.<sup>1,4</sup>, Павлова О.А.<sup>1</sup>, Гагинская Е.Р.<sup>1</sup>, Галкина С.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб. 7/9; <sup>2</sup> Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского Минздрава РФ, Россия, Саратов, 410012, ул. Большая Казачья, 112; <sup>3</sup> Национальный институт с.-х. исследований, Франция, 31326 Кастане-Толозан; <sup>4</sup> Российский государственный педагогический университет им.А.И.Герцена, Россия, Санкт-Петербург, 191186, набережная реки Мойки, д.48

[ontica@mail.ru](mailto:ontica@mail.ru)

Японский перепел *Coturnix japonica* – важный модельный объект для проведения биомедицинских исследований, изучения проблем биологии развития и физиологии поведения, а также один из самых высокопродуктивных с.-х. видов птиц. Кариотип японского перепела хорошо изучен,  $2n=78$ , состоит из 10 пар макрохромосом и большого числа трудноразличимых микрохромосом. Размер генома японского перепела больше, чем размер генома кур (1,41 пг vs. 1,25 пг). Микрохромосомы перепела – субметацентрические, в отличие от акроцентрических микрохромосом курицы. Существующая в настоящее время сборка генома состоит из 32 групп сцепления, полностью отсутствует информация о 10-ти самых мелких хромосомах: CJA29-CJA38.

Этот вид был в числе первых, для которых была выявлена фракция сателлитной ДНК в геноме. Распределение блоков конститутивного гетерохроматина (выявляемые методом С-бэндинга) следующее: центромерные районы макрохромосом, половой хромосомы CJAW, р-плечи некоторых макро- и всех микрохромосом представлены GC-богатым гетерохроматином.

Центромерные, перичентромерные, а иногда и теломерные, области хромосом образованы тандемно расположенными многокопийными последовательностями (тандемные повторы, ТП), однако информация об их составе также отсутствует в геномной сборке. В нашем исследовании мы поставили цель идентифицировать, охарактеризовать и исследовать их представленность в геноме японского перепела.

Мы проанализировали имеющиеся в свободном доступе в интернете базы сырых данных секвенирования и идентифицировали 23 новых ТП, оценили их представленность в геноме, составляющую по меньшей мере 4,8% генома. С помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* мы показали, что выявленные нами ТП входят в состав гетерохроматина коротких плеч акроцентрических микро- и макрохромосом CJA3 и CJA4 и субметацентрических микрохромосом. ТП CjarSAT с базовой повторяющейся единицей ~1180 п.н. входит в состав перичентромерных районов CJA 1-6 и, по крайней мере, трех пар микрохромосом, а также в состав р- и q-плеч CJAW.

Вопрос о функциональном значении большинства выявленных нами тандемных повторов остаётся открытым. Полученные нами данные позволили дополнить информацию об организации генома перепела и расширили спектр охарактеризованных сателлитных последовательностей, которые внесли вклад в общее увеличение размера генома этого вида.

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

## НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ДЕФЕКТЫ, ВЫЯВЛЕННЫЕ В БЕЛОРУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ГАПЛОТИПАМИ ФЕРТИЛЬНОСТИ

Михайлова М.Е., Киреева А.И., Романишко Е.Л., Камыш Н.А., Тиханович Н.И., Шейко Р.И.,

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Республика Беларусь, 220072, г. Минск, Академическая, 27, тел. +(375)17-399-32-05,*

*M.Mikhailova@igc.by*

Интенсивная селекция молочного скота за последние десятилетия в мире привела к значительному повышению молочной продуктивности. В Беларуси надой на 1 корову в 50 элитных аграрных хозяйствах достигает 10 тыс. литров молока в год. Однако, на фоне постоянного увеличения продуктивности у коров голштинской породы наблюдается снижение репродуктивной способности, которая связана с мутациями в геноме. Это вызвано ведением жесткой селекций по ограниченному числу признаков продуктивности и использованием искусственного осеменения небольшим количеством лучших быков-производителей, что и привело к снижению генетической изменчивости, которая сопряжена с неконтролируемым появлением и распространением наследственных дефектов, приведших к снижению репродуктивных качеств коров и как следствие - к убыткам, так как уменьшается производство молока из-за отсутствия лактационного периода у коров. Известны мутации наследственных заболеваний, связанные с пониженной плодовитостью КРС: дефицит уридин-монофосфатсинтазы (DUMPS), дефицит лейкоцитарной адгезии (BLAD), комплексный порок позвоночника (CVM), брахиспинальный синдром (BY), а наряду с традиционной аббревиатурой, это гаплотипы фертильности (ННД, ННВ, ННС, НН0). В настоящее время выявлены новые мутации, ассоциированные с гаплотипами фертильности: НН1 (*APAF1*, C→T, Q579X), НН3 (*SMC2*, T→C, F1135S), НН4 (*GART*, A→C, N290T), НН5 (*TFB1M*, 138kb Del), НСD (*APOB*, 1,3 kb Ins). Нами продолжен скрининг племенных стад на выявление мутаций в генах *FANCI*, *SLC35A3*, *ITGB2*, *DUMPS* (гаплотипы фертильности НН0, ННС, ННВ, ННД), а также впервые в Беларуси с помощью разработанных нами ДНК-технологий, проведен мониторинг популяций скота, направленный на выявление животных-носителей LoF-мутаций в генах *APAF1*, *SMC2*, *GART*, *TFB1M*, *APOB*, ассоциированных с гаплотипами фертильности, таких как НН1, НН3, НН4, НН5, НСD. Исследовано поголовье скота (614 особей). Определена частота животных-носителей мутаций, ассоциированных с плодовитостью КРС в Беларуси, а именно: гаплотипы фертильности НН1 – 3,94 %, НН3 – 2,6 %, НН4 – 0,66 %, НН5 – 2,7 %, НСD – 1,35 %, НН0 – 5,71 %, ННВ – 0,44 %, ННС – 2,67 %, ННД – 0%. Полученные результаты согласуются с литературными данными. Это подтверждает важность проводимых исследований. Рекомендации по элиминации вредных рецессивных мутаций, приводящие к снижению репродуктивных качеств коров, расширяют возможности повышения молочной продуктивности и позволяет сделать вклад в совершенствование генофонда белорусских популяций КРС.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена в рамках задания «Разработать ДНК-маркирование генов на основе однонуклеотидных замен (SNaPshot анализ), определяющих фертильность и молочную продуктивность крупного рогатого скота» подпрограммы 1 «Инновационные биотехнологии - 2020» ГП «Наукоемкие технологии и техника» на 2016-2020 годы.

**Симпозиум XVI: Регуляция действия гена и эпигенетика / Symposium  
XVI: Regulation of Gene Expression and Epigenetics****СТРУКТУРА И РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ *LUX*-ОПЕРОНА  
МОРСКИХ СВЕЯЩИХСЯ ПСИХРОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ  
*ALIIVIBRIO LOGEI***

Баженов С.В.<sup>1,2</sup>, Мелькина О.Е.<sup>2</sup>, Хрульнова С.А.<sup>2</sup>, Завильгельский Г.Б.<sup>2</sup>, Манухов И.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Институтский пер. 9, 141700,

<sup>2</sup>НИЦ "Курчатовский институт" – ГосНИИгенетика, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1, 117545.

[bazhenov1994@gmail.com](mailto:bazhenov1994@gmail.com)

Люминесценция бактерий *Aliivibrio logei* регулируется по механизму "quorum sensing" I типа, с аутоиндуктором: N-(3-оксогексаноил) лактоном L-гомосерина (АИ). В отличие от *lux*-оперона *A. fischeri*, содержащего одну копию гена *luxR* – активатора транскрипции, в составе *lux*-регулона *A. logei* имеется две копии гена — *luxR1* и *luxR2* и два *lux*-бокса [1].

Гены *luxCDABE* и *luxI* транскрибируются с двух «правых» промоторов *Pr1* и *Pr2* соответственно, а *luxR1* и *luxR2* гены с «левых» *P11* и *P12*.

Известно, что *P1* промотор гена *luxR* *A. fischeri* регулируется по принципу отрицательной обратной связи, т.е. при повышенной дозе гена *luxR* и высоких концентрациях АИ наблюдается снижение уровня транскрипции [2]. В настоящей работе было проведено исследование регуляции экспрессии генов с *P11* и *P12* промоторов в зависимости от количества АИ и дозы генов *luxR1* и *luxR2*. Исследование экспрессии проводилось с использованием *lux*-биосенсоров – генов *luxCDABE* из *Photobacterium luminescens* транскрипционно слитых с промоторами *P11* и *P12* в гетерологической системе *Escherichia coli*. Показано, что транскрипция с промотора *P11* существенно снижается в зависимости концентрации АИ в клетках, содержащих гены *luxR1* и *luxR2*. При этом увеличение дозы гена *luxR1* не приводит к ауторепрессии, т.е. наличие гена *luxR2* в клетках является необходимым для наблюдения данного эффекта. Таким образом, имеет место репрессия промотора *P11* *A. logei*, как и для *P1* *A. fischeri*, однако требуется наличие в системе обоих генов *luxR1* и *luxR2*.

Транскрипция с промотора *P12* напротив резко возрастает при добавлении АИ в среду. Этот эффект наблюдается как в присутствии обоих регуляторных генов, так и одного лишь *luxR2*. Повышение дозы гена *luxR2* приводит к увеличению наблюдаемого эффекта, максимальный коэффициент индукции *P12* промотора составлял 4 порядка.

Таким образом, имеет место каскадное усиление, в котором LuxR1 усиливает экспрессию LuxR2, который, в свою очередь, усиливает собственный промотор и промоторы генов *luxCDABE* и *luxI*. Такое усиление может быть востребовано в стрессовых условиях, т.к. LuxR1 в отличие от LuxR2 не зависит от шаперона GroEL/ES и протеазы Lon.

[1] Manukhov IV, Khrul'nova SA, Baranova A, Zavilgelsky GB, Comparative analysis of the lux operons in *Aliivibrio logei* Kch1 (a Kamchatka isolate) and *Aliivibrio salmonicida*// 2011, J. Bacteriol. V.193, P.3998-4001.

[2] Shadel GS and Baldwin TO, The *Vibrio fischeri* LuxR protein//1991, J. Bacteriol. V.173 P.568-573

## ОПТИМИЗАЦИЯ ДЕЗОКСИРИБОЗИМОВ ДЛЯ РАСЩЕПЛЕНИЯ ГЕНА ДОМАШНЕГО ХОЗЯЙСТВА DAD1

Дубовиченко М.В.<sup>1</sup>, Недорезова А.Д.<sup>1</sup>, Колпациков Д.М.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Университет ИТМО, Лаборатория SCAMT (Solution Chemistry of Advanced Materials and Technologies / Растворной химии передовых материалов и технологий), Россия, Санкт-Петербург, Ломоносова ул., 9; <sup>2</sup>Chemistry Department, University of Central Florida, 4000 Central Florida, Orlando, Fl, USA,

[dubovichenko@scamt-itmo.ru](mailto:dubovichenko@scamt-itmo.ru)

Дезоксирибозимы (DZ) – каталитически активные ДНК молекулы, способные расщеплять мРНК и подавлять экспрессию генов. Они являются более специфичной альтернативой таким агентам для генной терапии, как RNAi [1] и CRISPR/Cas-9 [2]. Нами были разработаны два типа дезоксирибозимов, расщепляющих транскрипт гена домашнего хозяйства DAD1 (Defender against apoptosis death): DZ1 и бинарный DZ. DZ1 – одноцепочечная ДНК молекула, которая комплементарно связывается с DAD1, и расщепляет его. Бинарный DZ обладает аналогичным свойством, при этом он состоит из двух ДНК, которые активируются только в присутствии последовательности РНК маркера нейробластомы N-Мус, что обуславливает специфичность действия дезоксирибозима.

Эффективность катализа зависит от длины связывающих к субстрату фрагментов нуклеотидов («рук») у дезоксирибозимов. Целью этой работы был поиск оптимальных длин «рук» у DZ1 и бинарных DZ, способствующих наиболее эффективному расщеплению.

В эксперименте с оптимизацией длин «рук» дезоксирибозимов мы проводили их инкубацию (100 нМ) со смесью из мРНК DAD1 (1 μМ) и околофизиологического буфера для расщепления (NaCl 15 mM, KCl 150 mM, MgCl 2 mM, HEPES 50 mM pH=7.5) при температуре +37° С. Инкубация проводилась с тремя временными точками: 5, 10 и 24 часа, с последующим анализом электрофорезом в 15%-ном полиакриламидном геле (ПААГ), содержащим 8М мочевины. Полученные результаты анализировали системой гель-документирования ChemiDoc.

В результате нами были проведены исследования выборки 12-ти вариантов DZ1 (10/7, 8/7, 6/6, 7/7, 8/8, 9/9, 10/10, 11/11, 12/12, 13/13, 14/14, 15/15), и 11-ти вариантов для бинарного DZ (9/11, 7/11, 7/9, 7/6, 6/6, 7/7, 8/8, 9/9, 10/10, 11/11, 12/12), где цифры означают длину «рук» в нуклеотидах. У DZ1 наиболее эффективными оказались 10/10 (84,6%), что больше, чем у второго по значению 13/13 (75,7%), а для бинарных DZ – 11/11 (56,4%), что больше, чем у второго по значению 12/12 (52,4%).

Таким образом, были найдены оптимальные пределы длин «рук» дезоксирибозимов DZ1 (10/10) и бинарного DZ (11/11), при которых расщепление DAD1 происходит с максимальной эффективностью. Данные варианты будут использоваться для подавления гена DAD1 в культуре клеток нейробластомы.

[1]. Kole, R., RNA therapeutics: beyond RNA interference and antisense oligonucleotides // 2012, Nat. Rev. Drug. Discov., V.11, P.125-140;

[2]. Zubair A. R, CRISPR-Cas9: a promising genetic engineering approach in cancer research // 2018, Ther. Adv. Med. Oncol., V.10.

## ПОИСК И АНАЛИЗ НОВЫХ АМИЛОИДОГЕННЫХ БЕЛКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДРОЖЖЕВОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

Зелинский А.А.<sup>1</sup>, Романова Н.В.<sup>1</sup>, Качкин Д.В.<sup>1</sup>, Каява А.В.<sup>2</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург 199034

<sup>2</sup>Centre de Recherche en Biologie cellulaire de Montpellier, France, Montpellier 34293

<sup>3</sup>Georgia Institute of Technology, USA, Atlanta, GA 30332-2000

[andrew\\_zelinsky@mail.ru](mailto:andrew_zelinsky@mail.ru)

Самовоспроизводящиеся белковые агрегаты (амилоиды) связаны с более чем 40 различными заболеваниями человека. Некоторые амилоиды (так называемые прионы) инфекционны, то есть могут передаваться между клетками, или даже между организмами. Показано также существование функциональных амилоидов, играющих позитивную биологическую роль. В то же время, образование и распространение амилоидов человека трудно изучать *in vivo* из-за сложности человеческого организма. Поэтому на сегодня остаётся неизвестным, какая доля протеома человека способна к образованию амилоидов. Существует несколько биоинформатических алгоритмов для предсказания амилоидогенного потенциала белков, но ни для одного из них предсказания пока не были проверены системно на большой выборке. В данной работе, мы проверили предсказания, выполненные при помощи алгоритма ArchCandy [1], который оценивает вероятность образования белковыми последовательностями  $\beta$ -арок, ключевых структурных элементов большинства амилоидов. Для проверки предсказаний ArchCandy была использована тест-система, использующая химерные конструкции, в которых проверяемые белки (или домены) слиты с прионным доменом дрожжевого белка Sup35. Это позволяет фенотипически детектировать нуклеацию амилоида (приона), вызванную проверяемым белком, по снижению функции белка Sup35 в терминации трансляции [2]. С помощью дрожжевой системы, мы проанализировали группу потенциально амилоидогенных белков, предсказанных алгоритмом ArchCandy, и идентифицировали новые белки (в том числе человеческие) и домены с амилоидогенными свойствами. Способность этих белков к агрегации была также проверена биохимическими и цитологическими методами в клетках дрожжей, и для некоторых белков – в клетках человека. На основании полученных данных, обсуждаются предсказательная эффективность биоинформатических алгоритмов и возможные функции амилоидогенных белков у человека.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта -- (РНФ) и проекта ... (СПбГУ), и при помощи Ресурсных центров «Биобанк», «Хромас» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

[1] Ahmed A.B. et al., A structure-based approach to predict predisposition to amyloidosis. // 2015, Alzheimer's Dementia V.11(6), P.681-690.

[2] Liebman S.W. and Chernoff Y.O., Prions in yeast. // 2012, Genetics V.191 (), P.1041-1072.

## ИЗУЧЕНИЕ АМИЛОИДНЫХ СВОЙСТВ БЕЛКОВ РНС3 И RAD51 *IN VITRO И IN VIVO*

Качкин Д.В.<sup>1</sup>, Аксенова А.Ю.<sup>1</sup>, Герасимова Е.М.<sup>1</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Научная лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9;

<sup>2</sup> School of Biological Sciences, Georgia Institute of Technology, Engineered Biosystems Building (EBB), M/C 2000, 950 Atlantic Drive, Atlanta, GA 30332-2000, USA

[pspdaniel@mail.ru](mailto:pspdaniel@mail.ru)

Амилоиды - это высокоупорядоченные агрегаты белковой природы, способные присоединять к себе мономерные молекулы того же белка с изменением его нативной конформации. Амилоидные фибриллы обогащены  $\beta$ -слоями и устойчивы к воздействию протеиназ и детергентов. Интерес к амилоидам обусловлен в первую очередь в виду вызываемых ими неизлечимых заболеваний человека и животных, среди которых такие важные заболевания как болезни Альцгеймера и Паркинсона. Амилоиды также могут выполнять биологически позитивные функции у различных организмов. Показана роль амилоидов и амилоидоподобных олигомеров в формировании биоплёнок у бактерий, синтезе меланина и долговременной памяти у животных. У дрожжей-сахаромицетов, амилоиды (которые называют прионами дрожжей) передаются в клеточных поколениях и являются носителями белковой наследственности.

В ходе исследований проведённых в нашей лаборатории, с использованием оригинальной дрожжевой тест-системы [1], были показаны амилоидные свойства для белков млекопитающих - Rad51 и РНС3 (изоформы 5 и 6).

Белок РНС3 является одним из ключевых компонентов поликомб группы (PcG) - комплекса необходимого для поддержания репрессивного состояния многих генов, включая *Нох*-генов во время развития организма. Мы полагаем, что амилоидная агрегация коротких изоформ белка РНС3 может приводить к амилоидизации его полноразмерной изоформы, таким образом, регулируя изменение уровня экспрессии ряда генов.

Белок Rad51 - один из основных белков системы репарации двунитевых разрывов ДНК. Мы полагаем, что агрегация Rad51 может влиять на стабильность генома в нормальных и раковых клетках.

Данная работа направлена на изучение амилоидных свойств белка Rad51 и коротких изоформ белка РНС3 *in vitro*, в клеточных культурах человека, тканях человека, а также на исследование функциональных эффектов амилоидизации данных белков.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ 15.61.2218.2013 и гранта РФФИ 18-04-00799. Для выполнения исследований использовалась приборная база РЦ «ХРОМАС» и «РМиКТ» научного парка СПбГУ.

[1] Chandramowlishwaran et al. // 2018, J Biol Chem., V. 239 N.9 P. 3436-3450.

## МЕТИЛИРОВАНИЕ ПСЕВДОГЕНА *PTENP1* В ТКАНЯХ ЭНДОМЕТРИЯ И РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЯХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Коваленко Т.Ф.<sup>1</sup>, Морозова К.В.<sup>2</sup>, Лапина И.А.<sup>2</sup>, Бобров М.Ю.<sup>3</sup>, Озолия Л.А.<sup>2</sup>, Патрушев Л.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10; <sup>2</sup>ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1; <sup>3</sup>ФБГУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова Минздрава России, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

[t\\_kov@mail.ru](mailto:t_kov@mail.ru)

Ген опухолевого супрессора *PTEN* имеет процессированный псевдоген *PTENP1*. Транскрипты *PTENP1* участвуют в регуляции экспрессии гена *PTEN*: смысловая РНК (сРНК) и антисмысловая РНК-β (асРНК-β) являются позитивными регуляторами экспрессии, в то время как антисмысловая РНК-α (асРНК-α) - негативный регулятор. Целью данной работы явилось исследование метилирования псевдогена *PTENP1* в малигнизированных и немалигнизированных тканях эндометрия и различных линиях клеток человека, а также изучение влияния метилирования на экспрессию данного псевдогена. Образцы ткани нормального эндометрия были взяты от женщин трех групп: 17-34 лет – 24 образца, 35–44 лет – 22 и 45–65 лет – 19 образцов. Группа больных гиперплазией эндометрия (ГПЭ) включала две подгруппы: 35 - 44 лет – 16 пациенток, 45 - 65 лет – 43 человека. Были также взяты образцы опухолевой ткани от 24 больных раком эндометрия (РЭ) (48 - 59 лет). В исследование были включены 8 линий клеток человека: HEK 293, MRC-5, MCF-7, HepG2, SCOV-3, SKBR-3, Colo-357 и HeLa. ДНК из клеток и тканей и РНК из клеток выделяли стандартным фенольным методом. Метилирование псевдогена исследовали методом метилчувствительной ПЦР. Транскрипты *PTENP1* детектировали с помощью ПЦР с обратной транскрипцией. Деметилирование ДНК в клеточных культурах проводили путем их инкубации с 5-азациитидином. В результате нами не было выявлено статистически значимых различий в частотах метилирования *PTENP1* у лиц старше 45 лет с нормальным эндометрием, ГПЭ и РЭ (58%, 74,4% и 70,8% соответственно). Не обнаружено различий и в частотах метилирования псевдогена у женщин от 35 до 44 лет с нормальным эндометрием и с ГПЭ (18% и 25 % соответственно). Однако были выявлены достоверные различия в частотах метилирования между тремя возрастными группами лиц с нормальным эндометрием (4%, 18% и 58% соответственно). Также были обнаружены различия в частотах метилирования между двумя возрастными группами пациенток с ГПЭ (25% и 74,4%). Метилирование *PTENP* детектировалось в 5 из 8 линий: MRC-5, MCF-7, HepG2, SCOV-3 и HeLa. сРНК и асРНК-β выявлялись во всех линиях, кроме HepG2, асРНК-α отсутствовала в линиях с метилированным *PTENP1*. После проведения деметилирования экспрессия асРНК-α восстанавливалась. Полученные результаты позволяют предположить, что метилирование *PTENP1* отражает возрастные изменения в эндометрии. Кроме того, метилирование псевдогена подавляет образование ингибирующей асРНК-α и, следовательно, может выполнять функции позитивного регулятора экспрессии гена *PTEN*.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ УРОВНЯ МЕТИЛИРОВАНИЯ ПРОМОТОРНЫХ РЕГИОНОВ ГЕНОВ *MIR21* И *CARMN* (*MIR143HG*) ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Королёва Ю. А.<sup>1</sup>, Зарубин А.А.<sup>1</sup>, Марков А.В.<sup>1</sup>, Салахов Р.Р.<sup>1,2</sup>, Шарыш Д.В.<sup>2</sup>,  
Слепцов А.А.<sup>1</sup>, Казанцев А.Н.<sup>3</sup>, Бурков Н.Н.<sup>3</sup>, Барбараш О.Л.<sup>3</sup>, Пузырев В.П.<sup>1,2</sup>,  
Назаренко М.С.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Россия, г. Томск; 634050, Набережная реки Ушайки, 10; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, г. Томск, 634050, Московский тракт, 2; <sup>3</sup>Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово, Россия, 650002, Сосновый бульвар, д. 6  
[yuliya.koroleva@medgenetics.ru](mailto:yuliya.koroleva@medgenetics.ru)

**Актуальность:** Известно, что в развитие атеросклеротического процесса вовлечены такие малые регуляторные молекулы как микроРНК, в частности, в сонных артериях обнаружено изменение экспрессии miR-21 и miR-143/145 [1], которое может возникать под влиянием изменения метилирования промоторных регионов генов *MIR21* и *CARMN* (он же *MIR143HG*). Однако исследования метилирования данных генов при атеросклерозе отсутствуют.

**Цель работы:** Проанализировать и сравнить уровень метилирования в промоторных регионах генов *MIR21* и *CARMN* в клетках атеросклеротических бляшек сонных артерий, внутренних грудных артерий и лейкоцитах крови больных атеросклерозом.

**Материал и методы:** исследуемая ДНК выделена из образцов атеросклеротических бляшек сонных артерий (САБ) и лейкоцитов крови (ЛКБ) 122 больных атеросклерозом (средний возраст 63,4±7,9 лет), а также из образцов внутренних грудных артерий (ВГА) 32 больных коронарным атеросклерозом (средний возраст 56,8±7,2 лет). Уровень метилирования ДНК проанализирован методом бисульфитного пиросеквенирования.

**Результаты и обсуждение:** Уровень метилирования обоих изученных регионов в САБ оказался значимо ниже, чем в ЛКБ, составив для *MIR21* 11±4% в САБ и 29±7% в ЛКБ ( $p<0,001$ ), а для *CARMN* 40±19% в САБ и 86±1% в ЛКБ ( $p<0,001$ ). Следует отметить, что в ВГА уровень метилирования *CARMN* (19±9%) был значимо ниже, чем в САБ ( $p<0,001$ ), а для *MIR21* значимых отличий между САБ и ВГА (11±3%) не установлено ( $p=0,8$ ), что расходится с описанным в литературе увеличением экспрессии miR-21 и miR-143 в пораженных атеросклерозом сонных артериях относительно непоражённых сосудов [1]. Однако, более низкий уровень метилирования *MIR21* и *CARMN* в тканях артерий по сравнению с ЛКБ позволяет говорить о тканеспецифичности метилирования. Кроме того, уровни метилирования *MIR21* и *CARMN* коррелируют как в САБ ( $r=0,850$ ;  $p=0,004$ ), так и в ВГА ( $r=0,668$ ;  $p=0,001$ ), что указывает на совместную регуляцию экспрессии их продуктов.

**Выводы:** Проведенное исследование позволяет говорить о тканеспецифичности метилирования ДНК в промоторных регионах генов *MIR21* и *CARMN* (*MIR143HG*) и совместной вовлеченности их продуктов, miR-21 и miR-143/145, в развитие атеросклероза.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 16-15-10150).

[1]. Markus B. et al. Differential expression of microRNAs in endarterectomy specimens taken from patients with asymptomatic and symptomatic carotid plaques. // 2016, PloS one, V.11(9), P.e0161632.

## ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ВИДОВОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ И ПЕРЕДАЧИ ПРИОНОВ У ДРОЖЖЕЙ

Майтова А.В.<sup>1</sup>, Гризель А.В.<sup>1</sup>, Рубель А.А.<sup>1</sup>, Чернов Ю.О.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург 199034, Россия; <sup>2</sup>Georgia Institute of Technology, USA, Atlanta, GA 30332-2000.

[maynastia@mail.ru](mailto:maynastia@mail.ru)

Заболевания, связанные с образованием фибриллярных упорядоченных белковых агрегатов с кросс-бета структурами (амилоидов), называют амилоидозами. Прионы – инфекционные амилоиды, которые передаются между организмами или по наследству в клеточных делениях. Для передачи прионов важно сходство аминокислотных последовательностей. Это создаёт межвидовой барьер, который в ряде случаев может нарушаться. В некоторых случаях амилоидная агрегация одного белка может индуцироваться агрегатами другого, негомологичного белка. К настоящему времени неясно, как контролируется специфичность иммобилизации новых молекул белка в амилоидные агрегаты.

Удобным объектом для изучения прионов являются дрожжи, у которых возникновение прионной формы ([PSI<sup>+</sup>]) фактора терминации трансляции Sup35 связано с наследуемыми признаками. Известны виды дрожжей с различной степенью родства, что позволяет исследовать взаимодействие белков Sup35 с разной степенью идентичности.

Целью данной работы является выявление молекулярных и клеточных механизмов, контролирующих видовую специфичность образования и переноса прионов у дрожжей. Наши данные показывают что возможность межвидовой передачи приона не обязательно коррелирует со степенью родства изучаемых видов или сходства аминокислотных последовательностей прионных доменов. Передача прионного состояния наблюдается между белками сильно удалённых видов *Ogataea methanolica* и *Saccharomyces cerevisiae*, но не между менее удалёнными видами *Lachancea kluveri* и *Saccharomyces cerevisiae*. Будут представлены данные и модели, объясняющие механизм контроля специфичности передачи прионов в этих межвидовых комбинациях.

Мы также показали, что конструкции, содержащие прионный домен белка Sup35 дрожжей *L. kluveri* формируют почти исключительно точечные агрегаты в клетках *S. cerevisiae*, тогда как конструкции с прионными доменами *S. cerevisiae* и большинства других исследованных видов дрожжей формируют как точечные, так и филаментозные структуры. Будут представлены данные о роли взаимодействия гетерологичных прионных доменов с другими внутриклеточными белками клетки-хозяина в формировании агрегатов различной морфологии и индукции приона. Результаты работы позволят выявить роль белковых последовательностей и клеточных факторов в видовой специфичности образования и передачи прионов.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта 18-74-00041 (РНФ) и проекта 15.61.2218.2013 (СПбГУ), и при помощи Ресурсных центров «Биобанк», «Хромас» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

## ТКАНЕСПЕЦИФИЧНОЕ МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК РЕГУЛЯТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ ГЕНОВ ABCA1 И ABCG1 В ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПРИ ИБС

Мирошникова В.В.<sup>1,2</sup>, Пантелеева А.А.<sup>1,2</sup>, Марков А.В.<sup>3</sup>, Назаренко М.С.<sup>3</sup>, Побожева И.А.<sup>1,2</sup>, Разгильдина Н.А.<sup>1</sup>, Беляева О.Д.<sup>2</sup>, Полякова Е.А.<sup>2</sup>, Беркович О.А.<sup>2</sup>, Баранова Е.И.<sup>2</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Россия, Гатчина, Орлова роца 1;

<sup>2</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6/8

<sup>3</sup>Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Россия, Томск, пер. Кооперативный 5.

[alekspanteleeva@gmail.com](mailto:alekspanteleeva@gmail.com)

Патологическое разрастание жировой ткани (ЖТ) ассоциировано с развитием сердечно-сосудистых заболеваний и метаболических нарушений. Нарушение функции эпикардиальной ЖТ (ЭЖТ) вследствие ее анатомической близости к миокарду и коронарным артериям, может влиять на формирование атеросклеротического поражения коронарных сосудов и развитие ИБС [1].

АТФ-связывающие белки-транспортеры ABCA1 и ABCG1 играют ключевую роль в регуляции обмена холестерина в адипоцитах [2]. Влияние на экспрессию генов может оказывать метилирование ДНК. Ранее была показана ассоциация ожирения с метилированием регуляторных областей ABCA1 и ABCG1 в клетках крови [3].

Цель данного исследования – изучение ассоциации тканеспецифичного паттерна метилирования регуляторных областей генов ABCG1 и ABCA1 в ЭЖТ и подкожной жировой ткани (ПЖТ) у пациентов с ИБС и в контрольной группе.

Материалы и методы. Исследование было выполнено на 34 образцах ЭЖТ и 34 образцах ПЖТ, полученных в ходе операций по аортокоронарному шунтированию и замене клапана (ИБС: N=26, контроль: N=8). Уровень метилирования регуляторных областей генов-транспортеров ABCA1 и ABCG1 определяли методом пиросеквенирования модифицированной бисульфитом ДНК. Уровень мРНК генов ABCA1 и ABCG1 измеряли ПЦР в режиме реального времени. Белок изучаемых генов оценивался методом вестерн-блот. Было показано, что уровень метилирования регуляторной области гена ABCA1 был выше в ЭЖТ ( $p=0.00006$ ) в обеих группах по сравнению с ПЖТ. В ЭЖТ уровень метилирования гена ABCA1 был достоверно повышен у лиц с ИБС ( $p=0.001$ ) по сравнению с контрольной группой. Аналогичные результаты были получены для гена ABCG1 – более высокий уровень метилирования наблюдался в ЭЖТ по сравнению с ПЖТ ( $p=0,00007$ ) в обеих группах и повышенный уровень метилирования в ЭЖТ у лиц с ИБС по сравнению с контрольной группой ( $p=0,004$ ). Нами также было показано, что у лиц с осложненной ИБС уровень мРНК гена ABCA1 в ЭЖТ и ПЖТ был достоверно снижен по сравнению с контрольной группой. Также снижен был и уровень белка ABCA1 в ЭЖТ ( $p=0,027$ ). Достоверных различий в уровнях мРНК для гена ABCG1 обнаружено не было.

[1]. Nagy E., Arch Med Sci. 13, 4 // 2017.

[2]. Frisdal E., Diabetes. 64, 3 // 2015.

[3]. Peng P., PLoS ONE. 9, 8 // 2014.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ 18-315-00382.

## СИСТЕМА ЛОКУСА *YELLOW* ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ГЕНОМЕ *DROSOPHILA* *MELANOGASTER*

Русакович А.Н.<sup>1</sup>, Кравченко Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Объединенный институт ядерных исследований, Россия, Дубна, ул. Жолио-Кюри д.6  
[artemrusakovich@yandex.ru](mailto:artemrusakovich@yandex.ru)

Многоклеточные организмы образуют различные типы клеток, отличающиеся по строению и выполняемым функциям. То, какой будет клетка, и какие гены в ней будут работать в определенный момент времени во многом контролируется различными генетическими регуляторными элементами. Идентификация и описание механизмов работы регуляторных элементов являются необходимыми для понимания устройства генома, генных систем и кластеров, и в перспективе позволяют управлять экспрессией тех или генов, в том числе и в разные моменты жизни клетки. Обширная коллекция радиационно-индуцированных мутантов *Drosophila melanogaster*, ведущаяся в Объединенном институте ядерных исследований [1], дает уникальную возможность изучения мутантных линий с разнообразным спектром изменений взаимодействий между регуляторными элементами. Изучение таких мутантов позволяет обнаружить новые регуляторные элементы, а создание молекулярно-генетических конструкций позволяет в рамках модельных систем описать их свойства и характер взаимодействий и контроля генов. Около 70 радиационных мутантов коллекции затрагивают функционирование локуса *yellow*, в норме определяющего темную пигментацию кутикулярных структур имаго. Секвенирование 40 мутантных по локусу *yellow* линий, как и ожидалось, выявило значительное количество микроинсерций/микроделений в кодирующей части гена и встроок мобильных элементов в различные области локуса. Однако среди проанализированных мутантов были обнаружены случаи, позволяющие предполагать возникновение мутантного фенотипа в следствие воздействия на локус *yellow* каких-то элементов, в норме отсутствующих в этой области и изменяющих паттерн экспрессии гена. В одном из этих случаев, мутантная линия содержит единственное изменение - инсерцию повторяющегося мотива в интрон гена, что предположительно может активировать транскрипцию через энхансеры, расположенные в 5'- области локуса, что в свою очередь может блокировать их деятельность [2]. Предварительный анализ транскрипционной активности в 5'- области локуса с помощью RT-PCR показал увеличение уровня транскрипции в этой области по сравнению с диким типом. Дальнейший анализ возможного регуляторного элемента ведется с помощью молекулярно-генетических конструкций. Авторы выражают глубокую благодарность Александрову И.Д. за предоставленные линии *D.melanogaster*.

[1]. Alexandrov, I.D., Ankina, M.A., Alexandrova, M.V. Report of new mutants. // 1985, D. I. S. 61: 212--213.

[2]. Erokhin M, Davydova A, Parshikov A, Studitsky VM, Georgiev P, Chetverina D. Transcription through enhancers suppresses their activity in *Drosophila*. // 2013, Epigenetics Chromatin., 26;6(1):31.

## РАЗРАБОТКА ПРОТОКОЛА ОПТИМИЗАЦИИ КАПЕЛЬНОЙ ЦИФРОВОЙ ПЦР (ddPCR) ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ЧИСЛА КОПИЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО И ЯДЕРНОГО ГЕНОМОВ, ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ И ЗРЕЛОЙ МИКРОРНК

Слепцов А.А.<sup>1</sup>, Зайцева А.В.<sup>2</sup>, Гончарова И.А.<sup>1</sup>, Голубенко М.В.<sup>1</sup>, Назаренко М.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Россия, г. Томск; 634050, Набережная реки Ушайки, 10; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, г. Томск, 634050, Московский тракт, 2

[alexei.sleptcov@medgenetics.ru](mailto:alexei.sleptcov@medgenetics.ru)

Оценка количества молекул ДНК и РНК с помощью капельной цифровой ПЦР (ddPCR), основана на оценке числа «положительных» и «негативных» капель по интенсивности флуоресценции, и позволяет обойтись без внешних стандартов и построения стандартных кривых. Однако разделение капель на положительные и негативные часто затруднительно, поскольку часть капель может иметь промежуточную интенсивность флуоресценции – так называемый «дождь» (“rain”), что затрудняет интерпретацию результатов эксперимента. Таким образом, поиск путей решения в получении однозначных результатов при проведении ddPCR представляется актуальным, что и явилось целью данного исследования.

Образцы ДНК и тотальной РНК были получены из лейкоцитов крови с помощью наборов DNeasy Blood & Tissue Kit и RAXgene Blood RNA Tube & Kit (Qiagen), соответственно. Синтез тотальной кДНК и кДНК-микроРНК проводили с наборами RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit и TaqMan Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit (Thermo). Для определения числа копий митохондриального и ядерного геномов, оценки экспрессии генов и зрелой микроРНК использованы наборы праймеров и TaqMan-зондов (ДНК-синтез, Thermo). Капельную цифровую ПЦР проводили на системе QX200 Droplet Digital PCR System (Bio-Rad), с реагентами и расходными материалами производителя.

Проведение серии экспериментов показало, что для лучшей оценки числа копий участков ДНК (CNV) ядерного генома, а также CNV и числа копий митохондриального генома необходимо проводить предварительную обработку ДНК с помощью сайт-специфичных эндонуклеаз, не затрагивающих последовательности ПЦР продуктов. Определение делеций мтДНК следует выполнять при количестве ДНК менее 1 нг на реакцию, а для оценки числа копий мтДНК на клетку необходимо иметь  $1 \pm 0,2$  нг на реакцию. Увеличение числа циклов ПЦР до 45-50, а также низкий темп изменения температур ( $1-2^\circ\text{C}/\text{сек}$ ), и удлинение этапов элонгации и денатурации (1-2 минуты) снижает число “rain”-капель. Очистка продуктов кДНК РНК и микроРНК с помощью SAP/EXO CleanUp методики не влияет на результат ddPCR.

Таким образом, разработан оптимизированный протокол ddPCR, который устраняет проблему капель с промежуточной флуоресценцией при детекции CNV ядерного и митохондриального генома, а также при оценке экспрессии генов и зрелой микроРНК.

## МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК ГЕНА ЭКДИЗОНОВОГО РЕЦЕПТОРА У КОМНАТНОЙ МУХИ И КОЛОРАДСКОГО ЖУКА

Никоноров Ю.М., Беньковская Г.В. ., Ахметкиреева Т.Т.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Россия, Уфа, проспект Октября, 71  
[bengal2@yandex.ru](mailto:bengal2@yandex.ru)

Общим явлением для большинства исследованных видов насекомых является подразделение генома на фракции с различным уровнем метилирования ДНК в кодирующих областях генов. Мы установили, что у комнатной мухи *Musca domestica* L. и колорадского жука *L. decemlineata* Say ДНК в 5'-концевой части кодирующей области гена экдизонового рецептора *EcR*, в отличие от ряда других генов, подвергается процессам метилирования-деметилования, вовлеченным, вероятно, в регуляцию транскрипции и сплайсинга мРНК. Исследования проводили на личинках и имаго колорадского жука из полевых выборок 2016-2018 г., а также личинках и имаго комнатной мухи из лабораторных линий *Sh gen* и *L gen*. Адметионин (SAM) в дозах 0.08 мг/1 мг массы тела и 20-гидроксиэкдизон (20E) в концентрации  $1 \cdot 10^{-7}$  М применяли для смачивания листьев картофеля, которыми кормили личинок и имаго колорадского жука, а также добавляли в пищу для личинок и имаго комнатной мухи. Индивидуальные препараты ДНК и РНК выделяли фенольно-детергентным методом из мышечных тканей личинок и тканей торакса и гонад имаго. Транскрипционную активность генов рецептора экдизона *EcR* определяли методом количественной ПЦР в режиме реального времени (qRT-PCR). С помощью метода метил-чувствительной ПЦР с использованием рестрикционных эндонуклеаз (MSRE-PCR) определялся уровень метилирования ДНК в проксимальной и дистальной областях 5'-концевой части гена *EcR*. У обработанных 20E личинок комнатной мухи и колорадского жука после первичной индукции экспрессии снижается содержание мРНК гена *EcR* в мышечных тканях, а у имаго - в тканях гонад и торакса. Статус метилирования ДНК в исследуемых областях гена существенно не меняется. Влияние SAM на изменения в представленности 5'- и 3'- концевых участков мРНК имеет тканевую и гендерную специфичность. У имаго обоих исследованных видов в норме проксимальный к 5'- концу сайт для рестриктазы HpaII метилирован в большей степени, чем дистальный. SAM проявил себя как индуктор процесса деметилования ДНК гена *EcR*, которое более выражено у самок в проксимальном сайте для рестриктазы HpaII, ассоциированном с ДНК-связывающим доменом белка *EcR*. В тоже время, SAM у имаго колорадского жука вызывает изменения в соотношении транскриптов, кодирующих изоформы А и В белка *EcR*, образующихся, вероятно, при альтернативном сплайсинге.

**Благодарности:** Исследования выполнены в рамках госзадания (№ темы АААА-А16-116020350032-1) и частично поддержаны грантом РФФИ № 17-44-020347-р\_а.

## EXPRESSION OF EPIGENETIC PROTEINS AND HISTONE MODIFICATIONS IN PENUMBRA IN THE RAT CEREBRAL CORTEX AFTER PHOTOTHROMBOTIC STROKE

Demyanenko S.V., Dzreyan V.A., Guzenko V.V., Uzdensky A.B.

*Laboratory of Molecular Neurobiology, Southern Federal University, Rostov-on-Don,  
pr. Stachky 194/1, Russia.*

*auzd@yandex.ru*

Stroke is the leading cause of human death and disability. In ischemic stroke vascular occlusion and energy deficit rapidly induce tissue infarct. Cell protection in infarct core is impossible, but during next hours the cell damage spreads to surrounding tissues and forms the transition zone (penumbra), which is potentially salvageable. However, reliable neuroprotectors are not found yet. Epigenetic processes such as covalent histone modifications play a pivotal role in global regulation of transcriptional activity of the genome. We studied some epigenetic mechanisms involved in the penumbra formation after photothrombotic infarct (a model of ischemic stroke) in the rat cerebral cortex. Photothrombosis was induced by local laser irradiation of the rat cerebral cortex after i.v. administration of Rose Bengal, which does not penetrate cells and remains in the bloodstream. Under light exposure it induces oxidative vascular lesion, thrombi formation and occlusion of small vessels. We observed the reduced acetylation of lysine 9 and phosphorylation of serine 10 in histone H3 in the ischemic penumbra (2-mm width ring around the infarct core) at 1, 4 or 24 hours after photothrombotic stroke. Deacetylation of histone H3 leads to chromatin condensation and suppression of its transcriptional activity. This effect could be initially (at 1 h after stroke) associated with increased expression of histone deacetylases HDAC1. Later, at 4-24 h, it was additionally enhanced by the over-expression of HDAC2 and HDAC4. Histone acetyltransferases HAT1 and PSAF were also up-regulated in the penumbra, but lesser and later (at 4-24 and 24 h, respectively). The expression of histone methyltransferase SUV39H1 did not change significantly in the penumbra. HDAC1 and HDAC2 but not HDAC4 may be potential targets for anti-stroke therapy, and their inhibitors can be prospective neuroprotective anti-stroke drugs. Supported by the Russian Science Foundation (#18-15-00110). A.B. Uzdensky was supported Russian Ministry of Education and Science (grant "Research organization" #6.4951.2017/6.7).

## АНАЛИЗ СВЯЗИ МЕТИЛИРОВАНИЯ CpG-САЙТОВ ГЕНОВ – РЕГУЛЯТОРОВ РЕДОКС-ГОМЕОСТАЗА С РАЗВИТИЕМ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Бушуева О.Ю.<sup>1</sup>, Барышева Е.М.<sup>1</sup>, Марков А.В.<sup>2</sup>, Королёва Ю.А.<sup>2</sup>, Чуркин Е.О.<sup>2</sup>,  
Назаренко М.С.<sup>2</sup>, Полоников А.В.<sup>1</sup>, Иванов В.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Курский государственный медицинский университет, НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии, Россия, г. Курск, ул. К. Маркса, д.3;

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Россия, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

[olga.bushueva@inbox.ru](mailto:olga.bushueva@inbox.ru)

Ишемический инсульт остается одной из главных причин смертности и инвалидизации во всем мире. Многочисленными исследованиями доказана ключевая роль окислительного стресса в патогенезе ишемического инсульта, в первую очередь атеротромботического инсульта (АТИ). Однако, работы, по анализу эпигенетических модификаций генов «окислительного стресса» при данном заболевании единичны. В рамках нашего исследования мы изучали метилирование четырех генов, вовлечённых в регуляцию сосудистого редокс-гомеостаза: *TXNRD1*, *GSTP1*, *GCLM* и *MPO*. Для генов *TXNRD1*, *GSTP1* и *GCLM* была изучена область промотора/1 экзона, а для гена *MPO* – 4-6 экзоны. В исследование были включены 24 пациента с АТИ (средний возраст 59,1±9,0 лет), находившихся на стационарном лечении в Курской областной клинической больнице в 2016-2017 гг., а также 83 относительно здоровых индивида без кардио- и цереброваскулярных заболеваний в анамнезе, нормальным уровнем артериального давления (средний возраст 60,9±10,8 лет). У всех пациентов на 1-2 сутки после госпитализации производился забор крови с экстракцией ДНК из лейкоцитов и последующей бисульфитной конверсией ДНК. Анализ уровня метилирования проводили методом пиросеквенирования на приборе «PyroMarkQ24» (Qiagen). Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программы SPSS Statistics v23. Для сравнения средних использовался U-критерий Манна-Уитни. Обнаружено, что у пациентов с АТИ, а также в контрольной группе наблюдается гипометилирование всех CpG-сайтов генов *TXNRD1*, *GSTP1* и *GCLM* (не более 5%). Статистически значимое снижение уровня метилирования показано для четвертого CpG-сайта гена *GCLM* у пациентов с инсультом по сравнению с контрольной группой (8,71±3,2% против 14,45±7,3%, p<0,05). В лейкоцитах крови у пациентов с АТИ уровень метилирования CpG-сайтов гена *MPO* по анализируемому региону в среднем (23,46±5,69%) был значимо ниже по сравнению с группой контроля (35,28±7,9%, p<0,05). Таким образом, при развитии АТИ в лейкоцитах крови отмечается снижение уровня метилирования отдельных CpG-сайтов генов *GCLM1* и *MPO*.

## ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ ЦЕПИ ХЛОРОПЛАСТОВ НА УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ФИТОХРОМОВ – УЧАСТВУЕТ ЛИ РЕТРОГРАДНЫЙ СИГНАЛИНГ?

Добрякова К.С.<sup>1</sup>, Тютерева Е.В.<sup>1</sup>, Войцеховская О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Россия,

Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2;

[kdobryakova@mail.ru](mailto:kdobryakova@mail.ru)

Скоординированная экспрессия ядерного и хлоропластного геномов, необходимая для нормальной жизнедеятельности растительной клетки, реализуется путем антероградного (от ядра к пластидам) и ретроградного (от пластид к ядру) направлений внутриклеточных механизмов регуляции гомеостаза клетки [1], [2].

С помощью метода количественной ПЦР в режиме реального времени было проведено изучение уровней экспрессии генов, кодирующих регуляторы онтогенеза, фитохромов, у 2х и 3х недельных растений *Hordeum vulgare* L. при воздействии веществ, влияющих на фотосинтез растений. Впервые обнаружены достоверные отличия в уровнях экспрессии генов, кодирующих фоторецепторы: *HvPhyA*, *HvPhyB* и *HvPhyC* в листьях ячменя обыкновенного при воздействии веществ, влияющих на работу электрон-транспортной цепи хлоропластов – метилвиологена (MV), диурона (DCMU), 2,5-дибром-3-метил-6-изопропил-р-бензохинона (DBMIB), фторида натрия, а также их комбинаций по сравнению с контрольными образцами. Связаны ли эти явления с ретроградными пластидными сигналами, влияющими на экспрессию данных генов при стрессовом воздействии? Обсуждению данной темы и будет посвящён предполагаемый доклад.

Данная работа была выполнена при поддержке РФФ (№14-16-00120-П).

[1]. Taylor W. Regulatory interactions between nuclear and plastid genomes. // 1989, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., V. 40, P. 211-233.

[2]. Rodermel S., Park S. Pathways of intracellular communication: tetrapyrroles and plastid-to-nucleus signaling. // 2003, Bioessays., V. 7, P. 631-636.

## ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ АДИПОГЕНЕЗА В ЭНДОМЕТРИОИДНЫХ ГЕТЕРОТОПИЯХ: ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ЖИРОВОЙ ТКАНИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭНДОМЕТРИОЗА

Мальшева О.В.<sup>1,2</sup>, Осинская Н.С., Швед Н.Ю.<sup>1</sup>, Ярмолинская М.И.<sup>1</sup>, Баранов В.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ АГиР им.Д.О.Отта, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия д.3;

<sup>2</sup>СЗГМУ им.Мечникова, Россия, Санкт-Петербург, Пискаревский проспект д.47  
[omal99@mail.ru](mailto:omal99@mail.ru)

Эндометриоз - одно из наиболее распространенных гинекологических заболеваний, при котором вне полости матки имеются очаги роста ткани, морфологически подобной эндометрию. Существуют три основные теории, объясняющие происхождение таких очагов. Согласно теории ретроградной менструации, фрагменты эндометрия с обратным током менструальной крови попадают в брюшную полость, оседают и прорастают в окружающие ткани. Новая версия этой теории предполагает имплантацию стволовых клеток, существование которых в менструальной крови доказано. Метапластическая теория предполагает возможность развития эндометриоидной ткани из клеток мезотелия брюшины. Источником эндометриоидных образований в этом случае могут быть метаплазировавшие клетки мезотелия или стволовые клетки брюшины. Дизонтогенетическая теория предполагает развитие очагов эндометриоза из эмбриональных остатков мюллеровых протоков. Ни одна из перечисленных теорий не доказана экспериментально.

Мы провели сравнительный анализ транскриптома эутопического эндометрия и перитонеальных эндометриоидных гетеротопий методом RNAseq, полученные результаты были верифицированы с помощью ОТ-РВ-ПЦР и ИГХ, и провели дополнительное исследование экспрессии ряда генов в брюшине пациенток с эндометриозом. Среди генов, гиперэкспрессированных в очагах эндометриоза, особенно выделялись три: *C7* (компонент комплемента 7), *FABP4* (связывающий жирные кислоты белок 4) и *ADH1B* (алкогольдегидрогеназа 1В) – для всех них различия в уровне экспрессии были кратны 200-300 ( $FDR < 10^{-15}$ ). В ходе выполнения работы мы показали, что изученные нами гены экспрессируются в эндометриоидных гетеротопиях на уровне, характерном для подлежащих тканей (брюшины).

Белки *FABP4* и *ADH1B* известны как маркеры адипогенеза, белок *C7* также вовлечен в дифференцировку стволовых клеток жировой ткани. Одинаково высокий уровень экспрессии исследованных генов в очагах эндометриоза и подлежащей брюшине может говорить об общности происхождения этих тканей, свидетельствуя в пользу метапластической теории происхождения очагов эндометриоза. Также полученные нами данные могут быть интерпретированы как указание на возможную роль стволовых клеток адипогенного ряда в патогенезе эндометриоза. В нашей работе мы впервые показали потенциальные молекулярные механизмы, через которые может осуществляться связь между развитием эндометриоидных гетеротопий и хорошо известными особенностями формирования жировой ткани у пациенток с эндометриозом.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФ 14-15-00737

## МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК И КЛЕТОЧНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ В АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШКАХ СОННЫХ АРТЕРИЙ У ЧЕЛОВЕКА

Марков А.В.<sup>1</sup>, Зарубин А.А.<sup>1</sup>, Шарыш Д.В.<sup>2</sup>, Голубенко М.В.<sup>1,3</sup>, Бабушкина Н.П.<sup>1</sup>,  
Валиахметов Н.Р.<sup>1</sup>, Казанцев А.Н.<sup>3</sup>, Бурков Н.Н.<sup>3</sup>, Барбараш О.Л.<sup>3</sup>, Пузырев В.П.<sup>1,2</sup>,  
Назаренко М.С.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Россия, г. Томск,;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, г. Томск, <sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Россия, г. Кемерово

[anton.markov@medgenetics.ru](mailto:anton.markov@medgenetics.ru)

Изменение метилирования ДНК по многим локусам генома было зарегистрировано в образцах артерий человека при развитии атеросклероза, однако результаты разных исследований слабо пересекаются. Одна из причин заключается в клеточной гетерогенности образцов и разного эпигенетического состояния клеток, составляющих стенку артерии.

**Цель работы:** Оценка клеточной гетерогенности атеросклеротических бляшек и клеточно-специфичных изменений метилирования ДНК с помощью биоинформатического подхода.

**Материал и методы:** Образцы атеросклеротических бляшек сонных артерий (САБ) и лейкоцитов крови (ЛК) были получены от 43 пациентов (25 мужчин, 18 женщин, средний возраст 63±7 лет). Для 16 образцов САБ было проведено иммуногистохимическое (ИГХ) исследование и анализ метилирования ДНК на метилочипах Infinium MethylationEPIC BeadChip (Illumina). Оценка клеточного состава образцов по профилям метилирования ДНК проводилась с помощью алгоритма EpiDISH [1]. Валидация уровня метилирования отдельных CpG-сайтов проведена с помощью таргетного бисульфитного секвенирования (NGS) ДНК из 34 парных образцов САБ и ЛКБ.

**Результаты и обсуждение:** Кластерный анализ на основании метилирования 775836 сайтов ДНК выявил разделение образцов САБ на 2 группы, не объясняемые ни особенностями клинической картины заболевания, ни гистоморфологическими характеристиками атеросклеротической бляшки. Дифференциально метилированными между данными группами оказались 120441 (15,5%) CpG-сайтов ( $|\Delta\beta| > 0,1$ ;  $p < 0,05$ ), в том числе сайт cg06330621 гена *ZCCHC14*. Рассчитанная с помощью EpiDISH фракция клеток лейкоцитарного ряда в образцах САБ хорошо объясняла их кластеризацию. Пропорция CD68+ макрофагов по данным ИГХ соотносилась с расчётной «моноцитарной» фракцией EpiDISH (разница оценок двух методов – от 3 до 11%). Анализ CpG-сайтов гена *ZCCHC14* в области локализации cg06330621 выявил тканеспецифические паттерны метилирования в образцах САБ и ЛК.

**Выводы:** Рисунок метилирования ДНК в атеросклеротических бляшках сонных артерий ассоциирован с количеством и составом клеток воспаления, инфильтрирующих бляшку. Приблизительный клеточный состав образца артерии человека может быть получен на основе данных о метилировании ДНК в нем.

[1]. Teschendorff A.E. et al, A comparison of reference-based algorithms for correcting cell-type heterogeneity in epigenome-wide association studies. // 2017, BMC Bioinformatics. V. 18. I. 1.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-10146).

## АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ И НАСЛЕДОВАНИЯ ТИПОВ СПАРИВАНИЯ У ВИДОВ-ДВОЙНИКОВ ИНФУЗОРИЙ КОМПЛЕКСА *PARAMECIUM AURELIA*

Потехин А.А.<sup>1</sup>, Некрасова И.В.<sup>1</sup>, Савка Н.<sup>2</sup>, Сингх Д.П.<sup>3</sup>, Майер Э.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. 7/9, 199034, Санкт-Петербург, Россия; <sup>2</sup> Institute of Systematic and Evolution of Animals, Polish Academy of Science, Slawkowska 17, 31-016 Krakow, Poland <sup>3</sup> Institut of Biology, Ecole Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm, 75005 Paris, France

[ne-irina@yandex.ru](mailto:ne-irina@yandex.ru)

Инфузории *Paramecium tetraurelia* стали одним из первых одноклеточных организмов, для которых было показано наличие пола и полового процесса и были проведены скрещивания особей разных типов спаривания [1]. Для всех видов-двойников комплекса *P. aurelia* характерна бинарная система типов спаривания, когда существует два типа спаривания – О и Е. Цитоплазматическое наследование типов спаривания *P. tetraurelia* было одним из первых обнаруженных эпигенетических феноменов. Материнское наследование типов спаривания характерно еще для шести видов комплекса, у *P. tredecaurelia* наследование типов спаривания происходит по Менделю, а у остальных семи видов типы спаривания определяются случайно после каждого полового процесса [2]. Для *P. tetraurelia* ранее нами [3] было показано, что тип спаривания зависит от состояния локуса, содержащего промотор и начало кодирующей последовательности гена mtA – у клеток типа спаривания О этот локус отсутствует в соматическом геноме, и ген не может экспрессироваться. Макронуклеарная делеция в гене mtA наследуется эпигенетически в ряду поколений *P. tetraurelia* [3]. Нами были изучены механизмы детерминации и экспрессии типов спаривания у видов комплекса *P. aurelia*, для которых характерно материнское наследование этого признака. У нескольких близких *P. tetraurelia* видов детерминация типа спаривания определяется также состоянием локуса, содержащего промотор гена mtA. У *P. sexaurelia* тип спаривания тоже определяется состоянием гена mtA, но эпигенетически наследуемой делеции подвергается 3'-конец гена. У двух видов, *P. septaurelia* и *P. biaurelia*, тип спаривания О детерминируется эпигенетически наследуемой макронуклеарной делецией части кодирующей последовательности гена mtB, кодирующего фактор транскрипции, специфичный для гена mtA. Генетический характер наследования типов спаривания у *P. tredecaurelia*, видимо, определяется точечной мутацией, обнаруженной нами в гене mtA у клона типа спаривания О. Таким образом, даже внутри комплекса видов-двойников *P. aurelia* система детерминации пола возникала, по-видимому, не единожды и на основе различных механизмов.

[1]. Sonneborn T.M. Sex, sex inheritance and sex determination in *Paramecium aurelia* // 1937, PNAS USA, V.23, P.378-85.

[2]. Orias E. et al. Genetics and epigenetics of mating type determination in *Paramecium* and *Tetrahymena* // 2017, Ann. Rev. Microbiol., V.71, P.133-56.

[3]. Singh D.P. et al. Genome-defence small RNAs exapted for epigenetic mating-type inheritance // 2014, Nature, V.509, P.447-52.

## HORMONAL REGULATION OF GENE EXPRESSION AND ITS SIGNIFICANCE IN THE SEX DETERMINATION IN ANIMALS

Trukhina A.V.<sup>1</sup>, Leoke D.Yu<sup>2</sup>, Nekrasova A.A.<sup>1</sup>, Smirnov A.F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Saint-Petersburg State University, Russia, Saint-Petersburg, Universitetskaya nab. 7/9;*

<sup>2</sup>*Biological Station Rybachy, Zoological Institute RAS, Russia*

*a.trukhina@spbu.ru*

Hormones are signal substances formed in the cells of the endocrine glands. After synthesis, hormones enter the blood and are transferred to the target organs, where they perform certain biochemical and physiological regulatory functions.

Hormonal systems are usually interrelated and, in a number of cases, form a hierarchical ladder. The most important of these is the pituitary and hypothalamic hormone system, controlled by the central nervous system (CNS). Steroid hormones act only on target cells and often suppress the synthesis or secretion of other hormones of the regulatory cascade. The most important among the steroid hormones of vertebrates are the sex hormones.

A common precursor of steroid hormones is cholesterol. It comes from different sources into hormone-synthesizing cells of the glands as part of low-density lipoproteins (LDL) or is synthesized in cells from acetyl CoA. Separate stages of the biosynthesis of steroid hormones are catalyzed by highly specific enzymes. Changes in the structure of these enzymes as a result of mutations can cause disturbances in the development of certain functions of the body.

All steroid hormones are lipophilic signaling substances. The site of action of these bioregulators is the nuclei of the target cells. In the blood, lipophilic hormones are usually associated with transport proteins of the blood. However, only the free hormone penetrates through the plasma membrane. In the cytoplasm or in the cell nucleus, the hormone interacts with a specific receptor. Binding of the hormone entails a conformational rearrangement of the receptor protein molecule conjugated with other proteins, dissociation with the release of inhibitor proteins and the formation of dimers with increased affinity for DNA.

A key stage in the hormonal regulation process is the binding of dimers of the hormone receptor complex to double-stranded DNA. The complex binds to regulatory regions of genes that have a specific nucleotide sequence, which is important for maintaining the specificity of the hormonal action. The binding of receptor dimers to GRE leads to stimulation, less often to inhibition, transcription of neighboring genes.

All of the above is of great importance for the determination and differentiation of sex in animals, including birds. At any stage, as a result of mutations of certain genes, violations may occur, and the characteristics of the gender may change. The extreme form of these changes is sex inversion.

The study was conducted with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research (Project 17-04-01321a).

## **RNA POLYMERASE II GENE EXPRESSION IN CLINICAL *LEISHMANIA* *MAJOR* ANTIMONIAL RESISTANCE ISOLATES**

Ahmadian S.<sup>1</sup>, Eslami G.<sup>1</sup>, Fatahi A.<sup>1</sup>, Hosseini S.S.<sup>1</sup>, Vakili M.<sup>1</sup>, Elloumi M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

<sup>2</sup>University of Tunis, Tunisia

ah.salman1368@gmail.com

Cutaneous leishmaniasis (CL) is one of the most important infectious diseases in the world and is increasing day by day. No effective vaccine against this disease has been made so far. An important issue with this disease is the development of drug resistance that is spreading. The mechanism of this phenomenon has not yet been completely identified [1]. The main aim of this study was to assess the expression of *RNAP II* gene in resistant and susceptible isolates of *Leishmania major*. The patients with CL from the central and North of Iran were considered for this study. The samples were transferred in RNAlater solution and stored in -20 °C. RNA extraction and cDNA synthesis was performed. The gene expression analysis was done with SYBR Green Real Time PCR using  $\Delta\Delta CT$ . Written informed consent was filled up by patients and then information forms were written based on Helsinki declaration. Statistical analysis was done with SPSS (16.0; SPSS Inc, Chicago) using independent t-test; Shapiro-Wilk, and Pearson's and Spearman's rank correlation coefficients.  $P \leq 0.05$  was considered significant. It was observed that the expression of the gene in the resistant isolates was lower than that in drug sensitive isolates. A change in the expression of *RNAP II* in resistant isolates of *Leishmania* can indicate the potential role of this gene in drug resistance.

### **References:**

[1]. Eslami G., Zarchi M.V., Moradi A., Hejazi S.H., Sohrevardi S.M., Vakili M., et al. Aquaglyceroporin1 gene expression in antimony resistance and susceptible *Leishmania major* isolates. J. Vector Borne Dis. 2016, 53(4): 370.

**Acknowledgment:** Authors thank from Shahid Sadoughi University of Medical Sciences from the financial supports.

## NEONATAL DEXAMETHASONE TREATMENT DISRUPTS FUNCTION OF CENTRAL NUCLEUS AMYGDALA IN ADULT MALE RATS

Lu K.T.<sup>1</sup>, Ko M.C.<sup>1</sup>, Lee M.C.<sup>1</sup>, Tang T.H.<sup>1</sup>, Lin W.H.<sup>1</sup>, Amstislavskaya T.G.<sup>2,3</sup>, Tikhonova M.A.<sup>2,3</sup>, Yang Y.L.<sup>4</sup>

*1 Department of Life Science, National Taiwan Normal University, Taipei, Taiwan;*

*2 Laboratory of Experimental Models of Neurodegenerative Processes, Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine" (SRIPhBM), Novosibirsk, Russia.*

*3 Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia.*

*4 Department of Biochemical Science and Technology, National Chia-Yi University, Chia-Yi, Taiwan*

*ktlu@ntnu.edu.tw*

Synthetic glucocorticoid dexamethasone (DEX) was widely used for preventing the development of chronic lung disease in extremely low birth weight (ELBW) preterm infants. Previous studies indicated that neonatal DEX treatment (NDT) altered neural plasticity in the hippocampus and leading to memory impairment, the possible effect of NDT on amygdala had not been fully examined. This study was aimed to investigate the NDT effect on the function of amygdala. Adult Wistar male rats received a tapering dose of DEX from postnatal day 1 to 3 (0.5, 0.3, and 0.1 mg/kg, subcutaneous injection respectively). Animals were subjected to in vitro extracellular recording, fear-potentiated startle (FPS), and western blotting at the age of 8 weeks old for evaluating the NDT effect on amygdala function. Results showed both HFS-LTP in CeA and FPS were impaired in NDT rats. The expression of NMDA receptors and the phosphorylation level of ERK (pERK) in the CeA were also reduced significantly. Systemic injection of HDAC inhibitor trichostatin A (TSA) restored both NMDA receptor expression and LTP in CeA. Administration of the partially NMDA agonist D-cycloserine (DCS) restored the LTP, the acquisition of FPS and the pERK level of the NDT rats. In this study, we concluded that glutamate NMDA receptor and ERK plays an important role in the adverse effect of NDT in CeA. D-cycloserine may serve as a therapeutic agent for the memory deficit induced by NDT.

Acknowledgements: This work was supported by Ministry of Science and Technology (MOST), Taiwan

## ЭКСПРЕССИЯ АЛЬТЕРНАТИВНОЙ РАМКИ СЧИТЫВАНИЯ В СОСТАВЕ ГЕННОЙ МАТРЕШКИ КАК НОВЫЙ МЕХАНИЗМ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЯ НА СТРЕСС

Шешукова Е.В.<sup>1</sup>, Комарова Т.В.<sup>1,2</sup>, Ершова Н.М.<sup>1,2</sup>, Камарова К.А.<sup>2</sup>, Корзина А.С.<sup>2</sup>, Гавриш Г.Е.<sup>2</sup>, Дорохов Ю.Л.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Москва, 119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д. 3; <sup>2</sup> Институт Физико-Химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва, 119992, Ленинские горы, дом 1, стр. 40

[ekaterina.sheshukova@gmail.com](mailto:ekaterina.sheshukova@gmail.com)

После окончания воздействия стрессовых факторов в растительной клетке уровень мРНК, кодирующих защитные белки, резко снижается. Помимо процесса транскрипции экспрессия генов может регулироваться и на посттранскрипционном уровне, в том числе посредством альтернативного сплайсинга и модификаций ядерно-цитоплазматического экспорта мРНК. Последние данные протеогеномики указывают на существование генных матрешек, во многом меняющих привычный смысл термина «ген». Генная система матрешка может проявляться на хромосомном уровне и на уровне зрелой мРНК, содержащей альтернативную открытую рамку считывания (аОРС). Недавно в нашей лаборатории был открыт новый механизм регуляции синтеза материнской мРНК в ответ на стресс с участием экспрессируемой вложенной аОРС [1]. Мы показали, что ген *Nicotiana benthamiana*, кодирующий белок, который имеет сходство с ингибитором протеазы Кунитца (*NbKPILP*, Kunitz protease inhibitor like protein), присутствует также у других представителей пасленовых, и содержит вложенную аОРС. В поисках механизмов регуляции этого гена мы обнаружили, что помимо транскрипции [2], накопление его мРНК в интактных листьях зависит от экспрессии аОРС, направляющей синтез полипептида длиной 53 аминокислоты. Биоинформационный анализ транскриптомов растений предсказывает существование подобных генных матрешек, вовлеченных в поддержание иммунитета, по крайней мере, у растений семейства пасленовых. Важно отметить, что в отличие от генов КРІ животных, *NbKPILP* не содержит интронов, что исключает регуляцию его экспрессии с помощью механизма альтернативного сплайсинга и функционирования ОРС в 5' нетранслируемой области (5'uORF). В отличие, например, от гена человека SERPINA1, кодирующего serine-type endopeptidase inhibitor, который контролируется на посттранскрипционном уровне с помощью 5'uORF. На примере структуры и функционирования генов, кодирующих ингибиторы сериновых протеаз растений и человека, нами предложена гипотеза, согласно которой вложенная альтернативная рамка считывания, контролирующая экспрессию материнской мРНК, является новым способом регуляции неинтронированных генов, которые у растений, как описано выше, обеспечивают быстрый ответ на стресс.

[1]. Sheshukova E.V. et al., An alternative nested reading frame may participate in the stress-dependent expression of a plant gene. // 2017, *Front. Plant Sci.*, 8:2137.

[2]. Шешукова Е.В. и др., Экспрессия генной матрешки, кодирующей гомолог ингибитора пептидазы Кунитца, контролируется как на уровне трансляции, так и транскрипцию. // 2018, *БИОХИМИЯ*, Т.83(10), С.1562–1571.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ (ОФИ-М №17-29-08012).

## Симпозиум XVII: Популяционная генетика /Symposium XVII: Population genetics

### ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСНОВ БРАЧНОГО ПОВЕДЕНИЯ У ГИБРИДОВ ВИДОВ-БЛИЗНЕЦОВ *D. VIRILIS* И *D. AMERICANA*

Белкина Е.Г., Куликов А.М., Лазебный О.Е.

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

ул. Вавилова, 26

[ellida69@mail.ru](mailto:ellida69@mail.ru)

Прекопуляционные изолирующие барьеры являются одним из важнейших механизмов репродуктивной изоляции, предотвращающим гибридизацию близкородственных видов. Видоспецифичное половое поведение животных является таким барьером. Брачный ритуал у видов рода *Drosophila* состоит из ряда фиксированных комплексов действий, таких как преследование самцом, ощупывание брюшка самки, лизание ее гениталий, вибрация крылом («пение»), кружение вокруг самки, ответное «пение» самки, включающих в себя обмен сигналами различной модальности между полами (визуальные, акустические, тактильные и химические). За столетнюю историю генетики было предпринято большое количество попыток по выявлению генов, детерминирующих половое поведение. Главным объектом этих исследований стала *D. melanogaster*. Значительный прогресс в области генетики количественных признаков связан с открытием и распространением в конце прошлого века методов тонкого генетического картирования. У дрозофилы анализировались многие признаки с помощью QTL-картирования, в том числе и брачная песня самца. Однако брачный ритуал в целом еще не изучался с помощью современных высокопроизводительных методов. В связи с этим нами была поставлена цель: выявить локусы в геномах видов-близнецов *D. virilis* и *D. americana*, влияющие на видоспецифичную изменчивость элементов брачного ритуала. Для выполнения поставленной цели были заложены 18 рекомбинантно-инбредных линий (РИЛ) межвидовых гибридов *D. virilis* и *D. americana*, которые изогенизировались в течение 15 поколений. Для каждого из родительских видов и РИЛ были поставлены по 30 попарных ссаживаний с видеофиксацией ритуала ухаживания. Каждая из 600 видеозаписей брачного поведения отдельных пар анализировалась на предмет структуры ритуала: определялись длительность элементов и их латентный период, фиксировались синхронность и последовательность выполнения отдельных элементов. Было выявлено значимое отличие структуры брачного ритуала родительских видов, а также значительная изменчивость элементов ритуала среди РИЛ. Для проведения генетического картирования элементов ритуала ухаживания используется метод ДНК-микрочипирования. В настоящее время ведется работа по генотипированию родительских видов и 18 РИЛ по отобраным 280 SNP-маркерам на приборах фирмы Perkin-Elmer (США).

**Благодарности:** работа выполняется при поддержке программой научных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем и биологические ресурсы России», раздел «Генофонды живой природы и их сохранение».

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ КАМБАЛЫ-КАЛКАН (*SCOPHTHALMUS MAEOTICUS*) В АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОМ БАССЕЙНЕ

Бессонова Н.А.

Азово-Черноморский филиал ФГБНУ «ВНИРО» (Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства)

344000, Ростовская обл., Ростов-на-Дону, Береговая ул., 21в

[nabessonova79@gmail.com](mailto:nabessonova79@gmail.com)

Камбала-калкан (*S. maeoticus*) является одной из наиболее ценных промысловых видов рыб Черного моря, перспективных для отечественной практики искусственного воспроизводства и товарной аквакультуры (азовская популяция современным научным сообществом рассматривается как подвид черноморской камбалы-калкан).

Было проанализировано 96 образцов камбалы-калкан, приуроченных к Кавказскому и Крымскому промысловым районам в Черном море и району Азовского моря. Проводилась ПЦР-амплификация ДНК, выделенной методом абсорбции на колонках, по 8 локусам. Продукты амплификации разделяли с помощью капиллярного электрофореза. Статистическую обработку данных проводили в пакетах программ GenAlEx v. 6, FreeNA.

У 96 особей камбалы-калкан из 3 выборок был выявлен 71 аллель. Величина средней ожидаемой гетерозиготности в популяциях камбалы-калкан Черного моря (Кавказский район  $U_{Ne}=0,625\pm 0,088$  и Крымский район  $U_{Ne}=0,617\pm 0,087$ ) и популяциях Азовского моря ( $U_{Ne}=0,612\pm 0,089$ ) находились на одном уровне, что указывает на равную степень генетического разнообразия в данных популяциях. Обращает на себя внимание наличие у камбалы-калкан большого числа частных аллелей – 28. Частота встречаемости, не превышающая 5 % порог, регистрировалась у большинства частных аллелей (26). Информативных аллелей (частных аллелей с частотой встречаемости выше 15 %) выявлено не было. В крымской и азовской выборках наблюдались статистически значимые отклонения от равновесия Харди-Вайнберга, возникающие в естественных популяциях в силу ряда причин: действие отбора, инбридинг, смесь нескольких популяций, в которых отличаются частоты аллелей, наличие нуль-аллелей. Отмечающийся недостаток гетерозигот по локусам *Sma-02* и *Sma-E79* у камбалы-калкан четко коррелирует с наличием нуль-аллелей, значения которых поддерживается высоким уровнем достоверности ( $P<0,001$ ), следовательно, недостаток гетерозигот по другим локусам может объясняться высокой степенью дифференциации между популяциями. Процент миграций между черноморскими популяциями и популяцией Азовского моря достигает 20 %, а между крымской и кавказской – не превышает 10 %, что указывает на слабый поток генов между ними.

У исследуемого вида, ведущего оседлый образ жизни, при отсутствии географической изоляции наблюдается структурированность популяции.

## ТЕХНОЛОГИЯ NGS И Y-ХРОМОСОМНЫЕ ФИЛОГЕНИИ: ПРЕДЕЛЫ РАЗРЕШЕНИЯ

Запорожченко В.В.<sup>1,2</sup>, Жабагин М.К.<sup>2,3</sup>, Балановский О.П.<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup>Медико-генетический научный центр (ФГБНУ «МГНЦ»), Россия, Москва, 115478, ул. Москворечье, д. 1; <sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН), Россия, Москва, 119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д.3;

<sup>3</sup>Национальный центр биотехнологии, Казахстан, Астана, 010000;

[valeryz2001@gmail.com](mailto:valeryz2001@gmail.com)

Y-хромосома является наиболее обширной нерекомбинантной частью генома млекопитающих, предоставляя филогенисту разнообразные типы варибельных признаков, пригодных для реконструкции истории. Однако для корректной реконструкции необходимо определить пределы ее разрешения, ответив на вопросы: сколь длинный фрагмент Y-хромосомы достаточен для нахождения однозначного дерева для любого числа таксонов? Дает ли технология NGS инструмент, с помощью которого можно различить на дереве отца и сына?

Значительный опыт работы с NGS-сиквенсами Y-хромосомы человека позволяет дать не исчерпывающие, но достаточно подробные ответы на поставленные вопросы. Среди тысяч доступных нашей исследовательской группе сиквенсов 10Мб Y-хромосомы имеются 100 образцов, полученных из 15 семейных групп, связанных документальным родством от 4 до 7 поколений. Изучение этих данных дает не только возможность калибровки скорости мутаций в Y-хромосоме, но и важную информацию о распределении разрешений SNP и STR признаков.

В реальных выборках сотен Y-хромосом из тысяч SNP едва ли более 5% оказываются уникальными. Причиной является низкая гомоплазия и эквивалентность целого ряда мутационных переходов, ввиду вымирания большинства ветвей, образовавшихся в прошлые тысячелетия. Уменьшает разрешение и строгая фильтрация сырых данных NGS.

Нами установлены нижние границы длины секвенированной области в Мб, позволяющие сохранить разрешение дерева, с учетом известной скорости мутирования Y-хромосомы человека и величины гомоплазии признаков. Также установлена необходимость получения из тех же сиквенсов, наряду с данными SNP, и данных STR, роль которых бывает критична для различения ближайших родственников. При этом участки, используемые для получения SNP, должны быть максимально удалены от участков, богатых STR-повторами, т.к. в противном случае точность реконструкции станет критически зависимой от качества выравнивания.

**Благодарности:** В части анализа образцов из популяций Дальнего Востока работа выполнена при поддержке РФФ (проект №17-14-01345).

## МЕНДЕЛЕВСКИЕ И НЕМЕНДЕЛЕВСКИЕ ГЕНЫ И ПРИЗНАКИ

Иванов Ю.Н.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск. Факс: (383)333-12-78

[iyn@bionet.nsc.ru](mailto:iyn@bionet.nsc.ru)

Взаимное соответствие генов и признаков, принимаемое за истину феногенетикой (генетикой развития), в общем случае отсутствует. Концепция соответствия *ген – признак* сохраняется в науке вследствие расширительной трактовки и незаконной экстраполяции законов Менделя. Они были открыты на качественных признаках, описывают наследование их альтернативных состояний и справедливы только для них (если их факторы локализованы в хромосомах, а не являются эпигенетическими). Но они не подходят для признаков количественных, имеющих непрерывную изменчивость и задаваемых не генами, а эпигенетически – цитоплазмой или средой (Иванов, 2012), а также для признаков качественных, но задаваемых эпигенетически. Для количественных признаков нельзя установить соответствие между геном и признаком: применение законов Менделя к описанию их наследования полигенами является фиктивным и связано с ложными допущениями, что любые гены влияют на фенотип, что их аллели имеют постоянные фены (сдвиги количественного признака) и что цель феногенетики – поиск пути развития гена в признак. Наследование мутантных и толерантных (нормальных) признаков различно. Мутации хромосомных генов вызывают летальность и реже видимые изменения фенотипа, и наследование этих признаков описывается законами Менделя. При изучении наследования толерантных (нормальных) признаков мы встречаем 2 типа генов. Их следует различать, и потому назовём их *менделевскими* и *не-менделевскими*. *Менделевские гены* локализованы в хромосомах и задают полиморфизм качественных признаков, т.к. их аллели, толерантные или мутантные, обуславливают альтернативные состояния этих признаков (дискретные морфы). Толерантные аллели менделевских генов отражаются на фенотипе, так что обусловленный ими признак указывает наличие соответствующего аллеля в генотипе. Их наследование, как и наследование любых мутаций, локализованных в хромосомах, описывается законами Менделя. Благодаря полиморфизму, Мендель открыл хромосомные гены и законы наследования их аллелей. Толерантный полиморфизм, подобный менделевским признакам у гороха, у разных видов нередок; но его не достаточно для общего утверждения, что каждому нормальному признаку соответствует особый ген (аллель). 1) Кроме менделевских, существуют другие гены, в отличие от них, не выражающиеся фенотипически. Таковы гены, мутации которых летальны вследствие кодирования ими важнейших ферментативных или иных функций. 2) Имеются признаки, для которых не существует определяющего их гена, напр., количественные и все другие эпигенетические признаки. В случае (1) имеется ген, но нет признака; в случае (2) имеется признак, но нет гена. Концепция *ген – признак* не подтверждается. *Не-менделевские гены* – это 1) хромосомные гены, аллельное содержание (генотип) которых не отражается на фенотипе (не считая летальности, уничтожающей фенотип), и 2) любые нехромосомные гены. В противоположность последним, хромосомные не-менделевские гены во всём подобны менделевским, только не проявляются в фенотипе явным образом. *Только фенотипически явные хромосомные гены являются менделевскими генами, а все остальные гены – не-менделевскими*. Соответствие между геном и признаком имеет место только для менделевских генов. Однако и это соответствие является односторонним, а не взаимно-однозначным, т.к. генотип по данному гену детерминирует признак, но сам признак может определяться не только данным геном, но и другими генами, или эпигенетически. Согласно разложению мутационного процесса в геноме мушки *Drosophila melanogaster* на основные типы мутаций (Ivanov, 1999), менделевские гены составляют около 8% хромосомных генов.

**Благодарность:** Работа выполнена при поддержке журнала *Drosophila Information Service*

## ИЗУЧЕНИЕ IVS1-5T>C В ГЕНЕ ССКАР У ЭТНИЧЕСКИХ БЕЛОРУСОВ

Иванова А.С.<sup>1</sup>, Синявская М.Г.<sup>1</sup>, Климов Е.А.<sup>2</sup>, Голоенко И.М.<sup>1</sup>, Давыденко О.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, 220027, ул. Академическая, 27;

<sup>2</sup>Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, 119234, Ленинские горы, 1, стр. 12

[a.s.ivanova97@gmail.com](mailto:a.s.ivanova97@gmail.com)

**Введение:** Ген ССКАР (ген рецептора А холецистокинина) человека кодирует ассоциированный с G-белком рецептор нейроэндокринных пептидов желудочно-кишечного тракта (холецистокинин-8 и гастрин). Этот рецептор является основным физиологическим медиатором секреции панкреатических ферментов и сокращения гладких мышц желчного пузыря и желудка, а также регулирует ощущение сытости. В нейронах головного мозга его лигандом является нейропептид холецистокинин-4, активирующий высвобождение бета-эндорфина и дофамина и являющийся основным медиатором тревожности.

Однонуклеотидный полиморфизм rs1800857 (IVS1-5T>C) гена ССКАР, детерминированного на хромосоме 4p15.2, локализован в интроне 1, вблизи акцепторной точки сплайсинга на границе интрона 1/ экзона 2. Мутантный вариант полиморфизма – аллель С – в некоторых исследованиях был вовлечен в патогенез шизофрении, болезни Паркинсона, расстройств питания, а также ассоциирован с паническими атаками и литерализацией речевой функции.

**Цель:** Изучить распределения частот аллелей и генотипов полиморфного локуса rs1800857 гена рецептора холецистокинина ССКАР в популяции этнических белорусов в сравнении с другими европейскими популяциями.

**Материалы и методы:** Изучено 570 этнических белорусов мужского пола. ДНК была выделена фенол-хлороформным методом. Генотипирование по полиморфному локусу rs1800857 гена холецистокининового рецептора А проведено методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

**Результаты:** Частота Т аллели в изучаемой выборке составила 0,88, а С аллели соответственно – 0,12. Генотип ТТ встречался у 435 добровольцев (76%), СТ – у 128 (23%), а СС – у 7 (1%).

В соответствии с данными, представленными на сайте NCBI, в европейской популяции распределение аллелей Т и С составляет соответственно 0,87 и 0,13. Генотип ТТ встречается у 74% добровольцев, генотип СТ – у 25%, а генотип СС – у 1%.

**Выводы:** Проведенный впервые в популяции этнических белорусов анализ IVS1-5T>C гена холецистокининового рецептора ССКАР показал близкое к другим европейским выборкам распределение частот аллелей и генотипов.

Так как нарушение работы холецистокинергической системы может участвовать в патогенезе различных заболеваний, считаем актуальным продолжение данных исследований в различных клинических выборках

## РЕКОНСТРУКЦИЯ ГЕНОФОНДА УБЫХОВ ЗАПАДНОГО КАВКАЗА ПО ДАННЫМ О ПОЛИМОРФИЗМЕ Y-ХРОМОСОМЫ

Кагазежева Ж.А.<sup>1,2,3</sup>, Схалыхо Р.А.<sup>1</sup>, Почешхова Э.А.<sup>3</sup>, Балановская Е.В.<sup>1,4</sup>,  
Балановский О.П.<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>Медико-генетический научный центр, Россия, Москва, 115478;

<sup>2</sup>Институт общей генетики РАН, Россия, Москва, 119991

<sup>3</sup>Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, 350063

<sup>4</sup>Биобанк Северной Евразии, Россия, Москва, 115201

[janetka0001@bk.ru](mailto:janetka0001@bk.ru)

Убыхи – автохтонный народ Западного Кавказа, который ныне в России считается исчезнувшим, а данные об их этногенезе скудны. До Кавказской войны (1854 г.) ареал этого многочисленного народа охватывал район современного Сочи и его окрестностей: на юго-востоке граничил с абхазскими племенами, на северо-западе – с шапсугами, на севере их земли от абадзехов отделял Кавказский хребет. Незначительная часть уцелевших после Кавказской войны убыхов мигрировала в Турцию, где на данный момент около 10 тысяч их потомков живут отдельными убыхскими селениями или совместно с черкесами.

Убыхи являются ключевым звеном для понимания взаимоотношений между народами, говорящими на языках абхазской и адыгской лингвистических ветвей. Немалый интерес вызывает предположение, что убыхи могли быть в числе потомков алан, поскольку в их составе было племя с таким названием.

Нами впервые изучен генофонд убыхов и создан их генетический портрет по современной панели маркеров Y-хромосомы, поскольку в условиях длительной ассимиляции именно эта система позволяет наиболее надежно реконструировать генофонд. Генотипирование проведено по «основной» панели маркеров (48 SNP маркеров) и «специальной» панели, включающей новые субветви гаплогруппы G2a, выявленные при полногеномном анализе Y-хромосомы (11 SNP маркеров). В анализ включены 38 мужчин из турецкой диаспоры убыхов.

Весь генофонд убыхов описывается двумя мажорными гаплогруппами – G2a и R1a. «Переднеазиатская» гаплогруппа G2a составляет больше половины всего генофонда убыхов. Наиболее частой оказалась ветвь G2a-P303, а внутри нее субветвь – G2a-P303-8903699, преобладание которой в генофонде убыхов приближает их к генофонду адыгейцев (шапсугов и темиргоевцев). Другая ветвь – G2a-P16, характерная для осетин, – составила четверть генофонда убыхов.

Матрица генетических расстояний и их картографирование демонстрируют, что в генетическом плане убыхи наиболее близки к популяциям адыгов (в особенности – к прикубанским шапсугам) и далеки от абхазов (генетическое расстояние до них на порядок больше, чем от адыгов). На графике многомерного шкалирования визуализируются два крупных кластера: отдельный генетический кластер образовали убыхи и популяции адыгейцев, в другой кластер объединились географически близкие абхазо-адыгские народы: кабардинцы, черкесы и абазины. Абхазы заняли промежуточное положение в генетическом пространстве между этими двумя кластерами.

**Благодарности:** исследования выполнены в рамках гранта РФФИ №16-06-00364 и госзадания ФАНО России.

## МЕЖВИДОВАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ У ЧЕШУЕКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ: РОЛЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ИНТРОГРЕССИИ В ФИЛОГЕНИИ И СИСТЕМАТИКЕ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП

Куфтина Г.Н.<sup>1</sup>, Шаповал Н.А.<sup>2</sup>, Яковлев Р.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Алтайский государственный университет, Россия, г. Барнаул, пр. Ленина, 61, 656049;

<sup>2</sup>Зоологический институт РАН, Россия, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 1, 199034

[galinakuftina@mail.ru](mailto:galinakuftina@mail.ru)

Митохондриальная интрогрессия – явление, при котором в результате межвидовой гибридизации митохондрии одного вида частично (на части ареала), или полностью (на всём ареале) замещают митохондрии другого вида. Митохондриальная интрогрессия - одна из фундаментальных проблем современной биологии. Это явление играет важную роль в понимании закономерностей биологической эволюции и видообразования, а также является фактором, затрудняющим делимитацию видов и реконструкцию филогенеза. Несмотря на очевидную важность, многие аспекты этой проблемы изучены крайне слабо и масштабы этого явления в природе до сих пор не ясны. Эмпирическое правило Холдейна предсказывает, что в случае межвидовой гибридизации особи гетерогаметного пола имеют тенденцию к пониженной выживаемости и фертильности, что может блокировать дальнейшую передачу митохондрий у организмов с гетерогаметным женским полом. Поэтому, митохондриальная интрогрессия долгое время считалась явлением если не невозможным, то крайне маловероятным у бисексуальных организмов с гетерогаметным женским полом (как в случае бабочек). Действительно, в целом, правило Холдейна соблюдается для чешуекрылых [1].

Однако выявленные нами случаи митохондриальной интрогрессии в отдельных семействах чешуекрылых насекомых, показывают, что гетерогаметность самок не является непреодолимым препятствием для межвидовой передачи митохондриального генома. Наши данные показывают, что: (1) отдельные виды могут неоднократно вступать в гибридизацию и иметь сразу несколько интрогрессированных митохондрий; (2) митохондриальная интрогрессия возможна даже в тех случаях, когда вступающие в гибридизацию виды резко различаются по числу хромосом и можно ожидать, что против гибридов первого поколения будет действовать не только генетически обусловленная несовместимость, но и отбор против хромосомных гетерозигот; (3) митохондриальная интрогрессия может быть причиной неточных или даже ошибочных филогенетических реконструкций, поэтому оценка филогенетических отношений в группах, вовлечённых в межвидовую гибридизацию должна проводиться на основе анализа множественных (как митохондриальных, так и ядерных) маркеров.

[1]. Presgraves D.C., Patterns of postzygotic isolation in Lepidoptera. // 2002, Evolution, V.56, P.1168-1183.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ №18-34-00756 и №17-04-00828, а также гранта проектной части Государственного задания Министерства науки и образования Российской Федерации № 6.2884.2017/4.6.

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЕВРОПЕЙСКОГО АНЧОУСА (ENGRAULIS ENCRASICOLUS) АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОГО БАССЕЙНА

Лебедева Е.В.,

«АзНИИРХ» филиал ФГБНУ «ВНИРО», Россия, Ростов-на-Дону, Береговая 21;

[lebede.catya@yandex.ru](mailto:lebede.catya@yandex.ru)

В Азово-Черноморском бассейне европейский анчоус (хамса) представляет собой один из наиболее массовых видов рыб, а также является важным объектом промысла. На основе морфо-биологических и физиологических критериев хамсу подразделяют на две расы: черноморскую и азовскую. Изъятие хамсы промыслом осуществляется на основе оценки численности двух запасов (азовский и черноморский). Для рационального использования промысловых запасов хамсы в Азово-Черноморском бассейне требует изучения популяционно-генетической структуры вида. Анализ варибельности участка мтДНК *cyt b* не выявил генетической дифференциации вида [1].

Использование микросателлитов, как более полиморфных маркеров, позволят дать оценку популяционной структуре и выявить современный уровень генных потоков между популяциями. Материалом для исследования служили 2 выборки европейского анчоуса из Черного (Black,  $n=186$ ) и Азовского (Azov,  $n=244$ ) морей, собранные в преднерестовый и нерестовый периоды 2016-2019 гг, а также в ходе промыслового лова в 2016-2019 гг. Выделение ДНК проводили из плавников солевым методом. STR-генотипирование проводили по 9 микросателлитным локусам (Ee2-508, Ee2-135, Ee2-483b, Ee2-91b, Ee2-407, Ee2-477, Ee2-91a, Ee2-165, Ee2-507). Продукты амплификации разделяли с помощью капиллярного электрофореза на устройстве секвенирования ДНК Нанофор05 (ЭЗАН, Россия). Полученные первичные данные обрабатывали с помощью программы «ДНК ФА» (ООО «НПФ Синтол»). Статистическую обработку данных проводили в пакетах программ GenAlEx v. 6, FSTATv. 2.9.3.2, FreeNA.

В ходе исследования двух выборок хамсы, не было обнаружено значимых генетических отличий. Это показывают рассчитанные генетические дистанции Нея и значения Fst. При попарном их сравнении максимальный уровень межвыборочной дифференциации в величинах для Fst был равен 0,002, а для Nei – 0,015. Данный уровень значений дифференциации является незначительным, что подтверждается данными анализа AMOVA, где уровень межпопуляционных различий составляет всего 1 %. PCA-анализ также не выделил четких кластеров, диагностирующих географию происхождения выборок азово-черноморской хамсы. Рассчитанное значение процента мигрантов на одно поколение ( $Nm=22,5$  %) показывает, что между азовской и черноморской хамсой идет активный генетический обмен. Данный факт согласуется с результатами, полученными по морфологии отолитов.

Таким образом, высокий уровень изменчивости европейского анчоуса позволяет формировать единое азово-черноморское стадо, вполне приспособленное к условиям обитания, свободно мигрирующее и смешивающиеся, чем обеспечивает высокий уровень потока генов между отдельными нерестовыми популяциями. Расовая фенотипическая подразделенность европейского анчоуса в Азово-Черноморском бассейне носит эпигенетический характер.

[1]. Водясова Е.А., Абрамсон Н.И., Генетическая изменчивость анчоуса в Азово-Черноморском бассейне. // 2017.

## МУТАЦИЯ с.358\_360delGAG КАК САМАЯ ЧАСТАЯ В ГЕНЕ *GJB2* У ОСЕТИН С НЕСИНДРОМАЛЬНОЙ НЕЙРОСЕНСОРНОЙ ТУГОУХОСТЬЮ.

Петрина Н.Е.<sup>1</sup>, Балинова Н.В.<sup>1</sup>, Марахонов А.В.<sup>1</sup>, Гетоева З.К.<sup>2</sup>, Михайлиди Е.Ф.<sup>2</sup>, Джаджиева М.Ю.<sup>2</sup>, Кадышев В.В.<sup>1</sup>, Галкина В.А.<sup>1</sup>, Зинченко Р.А.<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр», г.Москва; <sup>2</sup>Государственное бюджетное учреждение Республиканская Детская Клиническая Больница Министерства Здравоохранения Республики Северная Осетия - Алания, г.Владикавказ; <sup>3</sup>Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г.Москва; <sup>4</sup>Московский областной научно-исследовательский клинический институт, г.Москва

[ninarich5@rambler.ru](mailto:ninarich5@rambler.ru)

**Введение:** В мире около 50% аутосомно-рецессивной (АР) несиндромальной нейросенсорной тугоухости (ННТ) вызвано мутациями в гене *GJB2* (локус DFNB1, OMIM#220290). С.35delG – мажорная мутация в странах Европы. Цель исследования – определить спектр мутаций в гене *GJB2* у 49 неродственных больных из Республики Северная Осетия Российской Федерации (38 осетин, 6 русских и др.) и поиск 101 kb делеции del(*GJB2*-D13S175) у гомозигот по *GJB2*-мутации.

**Методы:** ПЦР-ПДАФ и ПДРФ анализ, секвенирование по Сенгеру кодирующего экзона 2 гена *GJB2*, del(*GJB2*-D13S175) диагностировали дуплексной ПЦР. Проанализированы 3 *GJB2*-варианта среди 103 здоровых осетин.

**Результаты:** В результате секвенирования кодирующего экзона 2 гена *GJB2* определено, что самой частой патогенной АР мутацией у осетин является с.358\_360delGAG (p.E120del) – 17,11%. Частота с.35delG – 14,47%, с.-23+1G>A – 1,32%, с.290dupA – 1,32%, с.313\_326del14 – 1,32%.

Популяционная частота варианта с.358\_360delGAG у здоровых осетин составила 1.94%, частота с.35delG – 0.49%. Мутация сайта сплайсинга с.-23+1G>A у здоровых осетин не найдена (популяционная частота менее 0.48%).

**Заключение:** О гомозиготах p.E120del ранее сообщалось в Иране, Турции, Пакистане, Франции и Германии, фенотип варьировал, но обычно был менее тяжелым, чем у 35delG-гомозигот[1]. Мутация с.358\_360delGAG в гене *GJB2* вторая по распространенности в турецкой, курдской, лурской и азербайджанской популяциях западной части Ирана[2]. У осетин мажорные мутации p.E120del (частота 0.17±0,04) и с.35delG (0,15±0,04), по t-критерию Стьюдента различия не достоверны. В здоровой осетинской популяции гетерозиготное носительство варианта с.358-360delGAG – 1:26, с.35delG – 1:103. Доля DFNB1-тугоухости у осетин 35.53%. ННТ – гетерогенное заболевание, поиск мутаций в других генах будет продолжен.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ №17-04-00288 и государственного задания Министерства образования РФ.

**Литература:**

1. Nişmi B.O., Yilmaz S.T., Incesulu A., Tekin M., Effects of *GJB2* genotypes on the audiological phenotype: variability is present for all genotypes. // 2006, International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology, V.70, P.1687—1694;

2. Bazazzadegan N, Nikzat N, Fattahi Z, et al. The spectrum of *GJB2* mutations in the Iranian population with non-syndromic hearing loss—a twelve year study. // 2012, International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology V.76, P.1164—1174.

## СТРУКТУРА РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ГРИБА *TRICHOPHYTON RUBRUM*

Пчелин И.М.<sup>1</sup>, Мочалов Ю.В.<sup>1</sup>, Чилина Г.А.<sup>1</sup>, Васильева Н.В.<sup>1</sup>, Тараскина А.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова Минздрава России, Россия, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41  
[arcella.oraia@gmail.com](mailto:arcella.oraia@gmail.com)

*Trichophyton rubrum* — доминирующий возбудитель грибковых патологий, таких как микоз и онихомикоз стоп. Считается, что популяция гриба сформировалась в течение XX века в результате энергичной клональной экспансии. До сих пор наличие каких-либо обособленных генетических линий *T. rubrum* оставалось под вопросом. Типирование гриба по белок-кодирующим локусам позволило предположить двухчастность российской популяции патогена [1]. Однако эти данные нуждались в подтверждении независимым методом типирования [2]. В ходе настоящего исследования мы определили структуру и характеристики популяции гриба, используя расширенный набор микросателлитных маркеров.

Методы: В исследование было включено 59 клинических изолятов *T. rubrum*. Видовую идентификацию подтверждали секвенированием региона ITS рДНК. Типирование проводили секвенированием белок-кодирующего локуса TERG\_02941 и микросателлитным анализом 12 локусов, включая 4 оригинальных. Данные обрабатывали в программной среде R 3.4.3, с использованием пакетов `polysat 1.7-3` и `poppr 2.8.1`. Кладограмма была получена методом NJ в Mega 5.2. Для расчета генетических расстояний был использован метод Бруво.

Результаты и обсуждение: Секвенирование локуса TERG\_02941 выявило один ОНП в позиции 793, мажорный аллель А встречался у 59% изолятов, минорный G — у 34%. Диаграмма рассеяния, основанная на результатах анализа длин микросателлитных локусов методом главных компонент, содержала два отдельных облака точек. Одно из облаков было сформировано изолятами TERG\_02941 793A, другое — 793G. Группировка изолятов на кладограмме NJ, построенной по микросателлитным данным, соответствовала группировке на диаграмме рассеяния. Значение индекса Симпсона, рассчитанного для равных выборок, значимо не различалось для разных генотипов TERG\_02941. Индекс ассоциации,  $\bar{r}_d = 0,02483$ , был рассчитан методом Multilocus Style Permutation после удаления одного неинформативного локуса и проведения клональной коррекции. Значение лежало за правой границей распределения ожидаемых частот. Вероятность  $\bar{r}_d$  была оценена как 0,002, что позволило отклонить нулевую гипотезу об отсутствии связей между маркерами. Тест  $\chi^2$  показал отсутствие связи между генотипом TERG\_02941 изолята и локализацией поражения на теле пациента.

Выводы: Микросателлитный анализ с расширенным набором локусов подтверждает наличие двух генетических линий гриба *T. rubrum* на территории РФ, с одинаковым разнообразием. В популяции гриба наблюдается значимое отклонение от равновесия Харди-Вайнберга.

[1]. Pchelin I.M., Azarov D.V., Chilina G.A., et al., Single nucleotide polymorphism in a local population of *Trichophyton rubrum*. // 2018, Med. Mycol., V.56, P.125–128.

[2]. Pchelin I.M., Kryuchkova M.A., Bogdanova T.V., et al., We need more powerful microsatellite assay for population genetic studies of *Trichophyton rubrum*. // 2018, Med. Mycol., V.56(S2), P.S119.

## РАЗНООБРАЗИЕ STR-ГАПЛОТИПОВ Y-ХРОМОСОМЫ КОРЕННЫХ НАРОДОВ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА: ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Романов А.Г.<sup>1,2</sup>, Балановская Е.В.<sup>1,2</sup>, Богунов Ю. В.<sup>1,3</sup>, Богунова А.А.<sup>1</sup>, Каменщикова Е. Н.<sup>4,1</sup>, Агджоян А. Т.<sup>1,2</sup>, Балановский О.П.<sup>3,2,1</sup>

<sup>1</sup>Медико-генетический научный центр, Россия, Москва, 115478;

<sup>2</sup>Биобанк Северной Евразии, Россия, Москва, 115201

<sup>3</sup>Институт общей генетики РАН, Россия, Москва, 119991

<sup>4</sup>Амурский гуманитарно-педагогический госуниверситет, Россия Комсомольск-на-Амуре, 681000

[a\\_romanov85@mail.ru](mailto:a_romanov85@mail.ru)

Коренное население Камчатки сохраняет элементы древнейших культур и генетическую память об истории населения Восточной Евразии и Северной Америки. Образцы ДНК представителей популяции эвенков Тугуро-Чумиканского района Хабаровского края (N=41) и трех популяций эвенков (N=113) Охотского побережья и Камчатки генотипированы по панели 18 STR маркеров и по широкой панели SNP маркеров Y-хромосомы. Разнообразие STR-гаплотипов внутри гаплогрупп оценили путем построения филогенетических деревьев для трех основных гаплогрупп, наиболее характерных для популяций коренного населения Дальнего Востока: C2-M217, C2b1a3-F3791, N3a6-B479. Для анализа привлечены неопубликованные данные коллектива по многим коренным народам Дальнего Востока России.

Гаплогруппа C2-M217 (ранее C3c) в генофонде коренных этносов Дальнего Востока представлена широко как у Приамурских этносов, так и у популяций Охотского побережья. Её медианная сеть характеризуется незначительным числом возвратных артикуляций и практически полным отсутствием этноспецифических кластеров. Основу сети составляет гаплотип-основатель, объединяющий семь популяций (нанайцы, эвенки камчатские и охотские, эвенки Чумикана). От него на минимальном расстоянии (1 мутационный шаг) находится кластер, объединяющий эвенков Чумикана, эвенков и хамнеган Забайкальского края, ульчей Приамурья. Невысокое генетическое разнообразие, по-видимому, является отражением отсутствия длительного периода дифференциации между популяциями региона. Структура медианной сети C2b1a3-F3791 сходна с предыдущей. В ее центре также находится гаплотип-основатель, включающий 8 популяций: верховые, низовые и озерные нанайцы, нивхи, эвенки, охотские и камчатские эвенки. Рядом с ним находится ветвь, сформированная гаплотипами охотских и камчатских эвенков. Можно выделить также вторую ветвь, которую составляют в основном гаплотипы верховых нанайцев и ульчей.

Гаплогруппа N3a6-B479, в отличие от двух предыдущих, высоко специфична для популяций Приамурья. Её медианная сеть включает три основные ветви. Первая из них объединяет группу очень сходных гаплотипов, главным образом, верховых нанайцев, в меньшей степени низовых, озерных нанайцев и эвенков. На небольшом расстоянии от нее находится вторая ветвь, с группой близких гаплотипов, характерных только для низовых и горинских нанайцев. Для популяций охотских эвенков и эвенков (третья ветвь) характерны совершенно другие гаплотипы. Таким образом, можно предположить, что популяции, принесшие в регион B479, мигрировали в Приамурье и Охотское побережье разными путями. В генофонде эвенков Камчатки ветвь N3a6-B479 пока не обнаружена, что может быть связано с малым размером выборки или эффектами дрейфа генов.

**Благодарности:** Исследования выполнены в рамках РФФИ 17-06-00472, РФФИ 17-14-01345, Госзадания ФАНО России

## ИНВЕРСИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ *SIMULIUM NOELLERI* (DIPTERA, SIMULIIDAE) В ПОПУЛЯЦИЯХ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

Тополенко В.И.<sup>1</sup>, Власов С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный областной университет, Россия, Мытищи, ул. Веры Волошиной, д.24.

[varya.topolenko@yandex.ru](mailto:varya.topolenko@yandex.ru)

Изучение кариотипов и хромосомных реорганизаций в семействе Simuliidae имеет важное значение для обнаружения криптических видов и разрешения эволюционных взаимоотношений. *Simulium noelleri* Friederichs, 1920, имеющий голарктическое распространение, предположительно является комплексом видов-двойников. В нем выделено 4 цитоформы: А – с недифференцированными половыми хромосомами; В и С – с различающимися сцепленными с полом инверсиями в длинном плече первой хромосомы; D – с определением пола по системе X0, Y0, Y1, где Y1 имеет комплекс сцепленных хромосомных реорганизаций в коротком плече третьей хромосомы. Различия в половых хромосомах цитоформ В, С и D, а также различия в профилях аутосомных полиморфизмов, позволило поддержать предположение о том, что *S.noelleri* является комплексом криптических видов. Однако, в силу аллопатрии между цитоформой А, С и D вопрос о статусе цитоформы А остался открытым [1]. Наши дополнительные исследования в Московской, Воронежской, Липецкой областях и республике Адыгея показали клинальную изменчивость частоты инверсий ПЛ-3 и ПИС-1 и увеличение их гомозиготности с севера на юг. ПЛ-3 в Адыгее полностью сцеплена с полом, что соответствует цитоформе С. Структурный анализ инверсионных профилей продемонстрировал, что валдайская популяция (цитоформа D) отличается от сходных между собой воронежской, липецкой (цитоформа А) и адыгейской популяций. Московская популяция – смешанная. Обнаружение клинальной изменчивости между цитоформами А и С, а также зоны контакта цитоформ А и D на северо-западе Московской области, позволяет предположить самостоятельность эволюционной судьбы последних.

[1] Vlasov S, Adler P.H., Topolenko V., Aibulatov S., Gorlov I., Harutyunova M., Harutyunova K. Karyotypic Characteristics of the Ornithophilic *Simulium aureum* Species Group (Diptera: Simuliidae) Along the Northern Black Sea Coast and the Origin of Chromosomal Reduction // Journal of Medical Entomology, 55(5), 2018, 1160–1169

## ПРИРОДНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ЕВРОПЕЙСКОЙ И ЗАПАДНОСИБИРСКОЙ СТЕРЛЯДИ (*ACIPENSER RUTHENUS L., 1758*)

Щербакова В.Д.<sup>1</sup>, Барминцева А.Е.<sup>1</sup>, Мюге Н.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва 107140;

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской Академии Наук, Москва 119334  
[viktoria.shch@mail.ru](mailto:viktoria.shch@mail.ru)

Стерлядь является самым мелким представителем рода *Acipenser*. Это пресноводная рыба, не выходящая в море и не совершающая длительных миграций. Ареал стерляди достаточно широк: она обитает в крупных реках Европы (бассейны Азовского, Белого, Каспийского и Черного морей), а также в Сибири (бассейн Карского моря). Между различными популяциями наблюдается высокая пластичность морфологических признаков. Однако генетическая дифференциация природных популяций изучена недостаточно хорошо.

Анализ мтДНК позволил выявить 164 гаплотипа у 654 особей из 13 рек. Не обнаружено ни одного общего гаплотипа между европейской и сибирской стерлядью. Не выявлено также ни одного общего гаплотипа между 2 речными системами Карского моря: обско-иртышской и енисейской. Это может указывать на одновременное заселение стерляди в речные системы, после которого миграции особей между ними не происходило.

Между выборками европейских особей обнаружено 28 общих гаплотипов среди всех рек (из них 16 общих среди бассейнов морей). Рыбы из каспийского и азово-черноморского бассейна не образуют отдельных кластеров. Это может быть связано с происхождением этих особей из единого Понто-Каспийского бассейна, а также с бесконтрольным перевозом рыб между речными системами.

Генотипированием 627 особей стерляди по 14 микросателлитным локусам из бассейнов Азово-Черноморского, Каспийского, Карского морей, были определены частоты аллелей, приватные аллели для популяций, рассчитаны генетические дистанции. Анализ показал четкое разделение европейских и сибирских особей на два непересекающихся кластера. Это является подтверждением результатов, полученных в анализе мтДНК.

Дальнейшая кластеризация европейских особей позволила выделить 7 групп: особи из нижней и средней Волги, рек Кама, Ока, Урал и рек азово-черноморского бассейна. При этом представители «средней Волги» образуют 2 кластера: первый - особи из Волгоградского и Саратовского; второй - из Куйбышевского и Нижнекамского водохранилищ.

Кластеризация сибирских особей также показала отделение обско-иртышских особей в отдельный кластер от енисейских представителей.

В настоящей работе показано существование четких различий между популяциями. Это необходимо учитывать при проведении восстановительных мероприятий, таких как выпуск молоди в места естественного нереста, с целью сохранения природного генетического полиморфизма и адаптивного потенциала локальных популяций.

## РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ПРОЦЕССЕ ЭЛИМИНАЦИИ МАЛЯРИИ В СНГ И ГРУЗИИ

Гордеев М.И.<sup>1</sup>, Ежов М.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный областной университет, Россия, Мытищи, ул. Веры Волошиной, д.24; <sup>2</sup>Европейское региональное бюро ВОЗ, Дания, Копенгаген, UN City, Marmorvej 51

[gordeev\\_mikhail@mail.ru](mailto:gordeev_mikhail@mail.ru)

В 2005 г. десять государств Европейского региона Всемирной Организации Здравоохранения, столкнувшиеся с возвратом малярии, приняли Ташкентскую декларацию «Вперед от борьбы к элиминации малярии», на основе которой была разработана региональная стратегия «От борьбы к элиминации малярии в Европейском регионе ВОЗ, 2006-2015». С целью научного обеспечения элиминации малярии были организованы генетические исследования комаров *Anopheles* (Diptera, Culicidae) и паразитов *Plasmodium* в эндемичных странах. На основании ПЦР-ПДРФ анализа структуры второго внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2 кластера рибосомных генов был описан новый вид *An. martinius* Gordeev et al., 2005. Показано, что главными переносчиками малярии в Закавказье являются *An. sacharovi* (в долинах) и *An. maculipennis* (в предгорьях). Главными переносчиками в Центральной Азии являются *An. superpictus* (на юге) и *An. messeae* (на севере). В результате цитогенетического анализа определен уровень хромосомного полиморфизма в популяциях *An. messeae* s.l.. Генетическая изменчивость возбудителей трехдневной малярии *Plasmodium vivax* была изучена в Средней Азии. Более низкий уровень полиморфизма генов *msp-1*, *msp-3α*, *csp* и *dbpII* обнаружен в Республике Кыргызстан по сравнению с таковыми в Таджикистане. Возбудители малярии в Кыргызской Республике состояли из нескольких линий, сильно различающихся на юго-западе и генетически однородных в северных районах. Такой профиль возбудителей свидетельствовал о неустойчивости паразитарной системы, находившейся на начальных этапах своего становления [1]. Генетические исследования паразитарных систем способствовали повышению эффективности национальных программ элиминации малярии. Успешная реализация этих программ привела к перерыву местной передачи малярии и её элиминации на всей территории Европейского региона ВОЗ.

[1]. Goryacheva I.I., Baranova A.M., Lukashev A.N., Gordeev M.I., Usenbaev N.T., Shaikevich E.V., Genetic characterization of *Plasmodium vivax* in the Kyrgyz Republic // 2018, Infection, Genetics and Evolution, V.66, P.262-268.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при финансовой поддержке Европейского регионального бюро ВОЗ и РФФИ в рамках научного проекта № 18- 04-01117 А.



## GENETIC RECONSTRUCTION OF ARTSAKH PALAEOFAUNA

Yepiskoposyan L.<sup>1</sup>, Antonosyan M.<sup>1</sup>, Seersholm F.<sup>2</sup>, Davtyan A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences, 7 Hasratyan str, 0014, Yerevan Armenia;* ; <sup>2</sup>*Trace and Environmental DNA Laboratory, School of Molecular and Life Sciences, Curtin University, Bentley, WA 6102, Australia*

[lepiskop@gmail.com](mailto:lepiskop@gmail.com)

The fossil fauna of Palaeolithic Karin Tak cave, Artsakh, was explored with ancient DNA bulk bone method to reconstruct environmental conditions in the region during the late Pleistocene. Subsequently, this allowed us to assess the plausibility of the refugium hypothesis for this region during the Last Glacial Maximum (LGM). The outcomes of present study essentially contribute to our understanding of past biodiversity and extinction processes during the late Pleistocene of the region based on the genetic identification of small fragments of fossil bones. The faunal assemblage we have uncovered evidence on relatively warm and humid climatic conditions during the LGM. Therefore, though the Artsakh is located at the crossroad of the Mediterranean, Europe and Asia, the reconstructed Pleistocene fauna suggests that the region might be regarded not only as a regular geographic corridor linking these areas, but also as a refugium for ancient biodiversity during the LGM. Based on the obtained results we consider Karin Tak cave to be a paleontological site of great regional importance, where the remarkable preservation conditions allow for a molecular reconstruction of prehistoric ecosystem. Further, the outcomes highlight the potential of ongoing excavations that will delve deeper into the past to uncover paleoenvironmental peculiarities of the Lesser Caucasus during the Pleistocene and Holocene.

## ТАНДЕМНЫЕ СЛИЯНИЯ И МНОЖЕСТВЕННЫЙ ХРОМОСОМНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ДВУХ ВИДОВ ВОСТОЧНОАЗИАТСКИХ ПОЛЕВОК ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ

Картавецва И.В., Шереметьева И.Н.

ФНЦ Биоразнообразие ДВО РАН, Росси, Владивосток, Проспект 100 лет Владивостоку 159

[Kartavtseva@biosoil.ru](mailto:Kartavtseva@biosoil.ru)

Известно, что во внутри и межпопуляционный полиморфизм млекопитающих, особенно у эволюционно молодых видов, могут быть вовлечены все известные хромосомные перестройки, однако, самым «вредным» из них являются тандемные (Т) слияния. Исследования характера Т перестроек у животных из природных популяций представляет большой интерес, так как показано, что транслокации и Т слияния лежали в основе преобразования кариотипов многих групп млекопитающих. В настоящее время Т слияния в гетерозиготном известны для пяти видов млекопитающих: *Uroderma bilobatum*, *Stenomys talarum*, *Sicista subtilis*, *Alexandromys evoronensis* и *A. maximowiczii*. Для двух последних видов, серых полевок, обитающих на востоке России, помимо Т слияний, описан множественный хромосомный полиморфизм. Частота хромосомных перестроек в популяциях полевок не исследована.

Для полевки Максимовича, по данным контрольного региона мтДНК нами выявлено две гаплогруппы: «западная» в Бурятии и Забайкалье и «восточная» в Бурятии, Забайкалье и Дальнем Востоке. В настоящей работе мы впервые исследовали гетерозиготное состояние Т слияния в популяциях двух гаплогрупп. Частота этих слияний в гетерозиготном состоянии у двух гаплогрупп не имела значительных различий была равна 0.309 и 0.303 соответственно, в то время как между хромосомными формами варьировала от 0.22 (форма «С» Дальний Восток) до 0.45 (форма «В», Забайкальский край). Для гаплогруппы «западная» выявлено от одной до трех вариантов робертсоновских перестроек, для гаплогруппы «восточная» – один. Обнаружена географическая изменчивость морфологии хромосом от акроцентрического варианта к метацентрическому в трех парах хромосом (за счет инверсии или смещения центромеры). Так, максимальное число особей с метацентрическим вариантом в гомозиготном состоянии в трех парах хромосом выявлено в гаплогруппе «восточная» на территории Верхнего Амура, а максимальное число особей имеющих акроцентрическое состояние этих хромосом зафиксировано в гаплогруппе «западная».

Для Эворонской полевки рассмотрены два варианта Т слияний в гетерозиготном состоянии: одно в популяции Хабаровского края ( $2n=40-41$ ) и одно, ранее не описанное, в Амурской области (слияние трех двуплечих хромосом,  $2n=34$ ). В докладе обсуждается роль тандемных слияний и других перестроек в преобразовании кариотипа *in statu nascendi*.

Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ: 06-04-48969 и 15-04-03871

## ПОПУЛЯЦИОННАЯ ГЕНЕТИКА ГРИБОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ЗЛАКОВ

Левитин М.М., Афанасенко О.С., Гагкаева Т.Ю., Ганнибал Ф.Б., Гультяева Е.И.,  
Мироненко Н.В.

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Россия, Санкт-Петербург-Пушкин, шоссе Подбельского, 3  
[mark\\_levitin@rambler.ru](mailto:mark_levitin@rambler.ru)

Исследования проводили с широко распространенными и вредоносными для злаков видами грибов: *Rhizoctonia trititica* – возбудитель бурой ржавчины пшеницы, *Pyrenophora tritici-repentis* – возбудитель пиренофороза пшеницы, *Pyrenophora teres* – возбудитель сетчатой пятнистости ячменя, *Cochliobolus sativus* – возбудитель тёмно-бурой пятнистости злаков, *Fusarium graminearum* – возбудитель фузариоза колоса зерновых культур и *Alternaria tenuissima* – колонизирующий семена. Цель исследований - установления генетического разнообразия популяций, эволюционного потенциала облигатных и гемибитотрофных патогенов зерновых культур, миграционных возможностей грибов. В качестве маркеров использовали признак вирулентности и современные молекулярные маркеры. Для облигатного патогена *P. tritici-repentis* установлено существование на территории РФ европейской, азиатской и северокавказской популяций. Выявлен интенсивный генный поток между северокавказской и европейской популяциями и слабый между европейской и азиатской. Определен разный уровень генотипического и генетического разнообразия изолятов с гексаплоидных, диплоидных и тетраплоидных видов пшениц. Результаты исследований легли в основу стратегии использования генов устойчивости пшеницы в различных регионах России. Популяции *P. tritici-repentis* обладали высоким генным разнообразием и наличием более высокой доли клональной фракции в северо-кавказской популяции в сравнении с популяцией северо-запада. Многолетние исследования структуры популяций *P. teres* выявили высокий уровень гетерогенности популяций по признаку вирулентности. Отмечены популяции, для которых характерно наличие «уникальных» рас, что является результатом постоянного расообразовательного процесса, в большей степени связанного с наличием половой рекомбинации. Установлены генетические различия между популяциями *C. sativus*, обитающими на ячмене и пшенице, что обусловлено специализацией патогена к растению-хозяину. Выявлены значительные генетические различия между популяциями *F. graminearum* дальневосточного и европейского происхождения. Анализ генома *A. tenuissima* позволил установить степень дифференциации популяций, уровень изоляции, индексы генетического разнообразия между Краснодарской, Ленинградской и Дальневосточной популяциями. Популяционно-генетические исследования имеют не только теоретическую, но и практическую значимость для разработки научно-обоснованных селекционных программ, прогноза и предотвращения эпифитотий.

## СПОСОБ ПОДДЕРЖАНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ ЖИВОТНЫХ ИЛИ РАСТЕНИЙ НА УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЯХ КАК РЕЗУЛЬТАТ НОВОГО НАУЧНО- ПРАКТИЧЕСКОГО НАПРАВЛЕНИЯ – ГЕНОУРБАНОЛОГИИ

Макеева В.М.<sup>1</sup>, Смуров А.В.<sup>1</sup>, Белоконь М.М.<sup>2</sup>, Политов Д.В.<sup>2</sup>, Белоконь Ю.С.<sup>2</sup>,  
Леонтьева О.А.<sup>3</sup>, Сулова Е.Г.<sup>3</sup>, Снегин Э.А.<sup>4</sup>, Титова С.В.<sup>5</sup>, Алазнели И.Д.<sup>6</sup>,  
Остапчук А.М.<sup>7</sup>, Каледин А.П.<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Музей землеведения Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, <sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Москва, <sup>3</sup>Географический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, <sup>4</sup>Белгородский государственный национальный университет, Россия, Белгород, <sup>5</sup>Институт географии РАН, Россия, Москва, <sup>6</sup>Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, <sup>7</sup>Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, Москва,  
[vmmakeeva@yandex.ru](mailto:vmmakeeva@yandex.ru)

В условиях глобальной урбанизации решить проблему длительного и устойчивого сохранения биоразнообразия на урбанизированных территориях позволяет геноурбанонология – новое научно-практическое направление (синтез популяционной генетики и системной экологии), разработанное авторами (Макеева и др., 2013). Задача геноурбанонологии состоит в изучении генетических параметров и механизмов поддержания гомеостаза антропогенно измененных экосистем. Геноурбанонология учитывает процесс необратимого изменения генофонда, происходящего в мелких изолятах, под действием дрейфа генов и инбридинга в условиях фрагментации ландшафта. Главная стратегическая задача геноурбанонологии состоит в поддержании качества генофонда (т.е. генетического разнообразия) городских популяций, которое обеспечивает поддержание их жизнеспособности. В рамках геноурбанонологии авторами разработан эффективный способ поддержания жизнеспособности популяций животных или растений на урбанизированных территориях (патент на изобретение № 2620079 от 22.05.2017, патентообладатель – МГУ имени М.В. Ломоносова).

Способ включает несколько последовательных этапов. Сначала количественно определяется степень отклонения генетических параметров популяций урбанизированных ландшафтов от природных эталонных, с помощью разработанного авторами коэффициента жизнеспособности популяций (Кж).

Если  $Kж \geq 0,9$ , то популяция в оздоровлении не нуждается. Если  $0,9 > Kж > 0,5$ , то популяция нуждается в оздоровлении. Если  $Kж \leq 0,5$ , то популяция нуждается в срочном оздоровлении. При получении  $Kж < 0,9$  осуществляют внесение генетического материала из природной эталонной популяции, что восстанавливает параметры генетического разнообразия, обеспечивая жизнеспособность популяций. Наиболее эффективно способ может быть использован на городских особо охраняемых территориях. Способ апробирован на особо охраняемых территориях города Москвы на примере модельных объектов (Макеева, Смуров, 2011). Способ используется для сохранения биоразнообразия на особо охраняемых территориях города Москвы. С.-Петербурга, в Белоруссии, а также для прогноза динамики продуктивности охотничьих угодий в Ярославской и Костромской областях. Изобретение авторов представляет большой практический интерес для организации природопользования будущего, т.к. предлагает новый экономически выгодный способ решения актуальной проблемы устойчивого сохранения городских популяций животных и растений, а также популяций охотничьих видов животных, обеспечивая их жизнеспособность.

## EXPRESSION OF THE *TOXA* EFFECTOR GENE IN THE *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS* ISOLATES *IN VITRO*

Mironenko N.V. , Orina A.M., Kovalenko N.M.

All-Russian Research Institute of Plant Protection, Russia, St. Petersburg-Pushkin, sh. Podbelsky, 3  
[nina2601mir@mail.ru](mailto:nina2601mir@mail.ru)

The fungus *P. tritici-repentis* (*Ptr*) is the causal agent of tan spot – widespread and harmful disease of wheat. *PtrToxA* toxin produced by *Ptr* is considered to be the main factor of pathogenicity and it induces necrosis on leaves of susceptible wheat lines. *PtrToxA* is encoded by the *ToxA* gene whose expression is regulated by a network of signaling genes including transcription factor *PtrPf2*.

Two groups of *Ptr* isolates from Kazakhstan (Almaty, 10 isolates) and Russia (Krasnodar, 12 isolates) were studied. The expression of *ToxA* and *PtrPf2* was analyzed *in vitro* in comparison with housekeeping gene actin (*Act1*) using quantitative PCR method. The virulence of all isolates was assessed by inoculating susceptible cv. Glenlea and the symptoms development was visually determined.

The aim of the study is, to estimate the polymorphism of level of *ToxA* expression inside and between populations and to find out the existence of association of this value with the expression of transcription factor gene *PtrPf2*.

The average values of *ToxA* transcriptional activity *in vitro* in both groups of Kazakh and Russian isolates were almost equal:  $0.78 \pm 0.11$  and  $0.818 \pm 0.02$  respectively. Whereas expression of *PtrPf2* was substantially higher in Kazakh isolates ( $1.06 \pm 0.03$ ) compared to Russian ( $0.67 \pm 0.01$ ). A significant correlation ( $p < 0.001$ ) between the variability of the expression level of *ToxA* and *PtrPf2* in Russian isolates was found ( $r = 0.96$ ), while for the Kazakh isolates such connection was not identified. Kazakh isolates induced more virulent reactions of necrosis (average 2.7) than Russian isolates (average 1.9), when inoculating susceptible cv. Glenlea, which is probably a phenotypic expression of *ToxA*. The greater severity of the virulence of the Kazakh isolates is apparently associated with their higher expression of *PtrPf2*. To verify this finding, research is needed *in planta*.

**Acknowledgments:** the work was supported by the RFBR grant No. 18-04-00128a.

## ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХИРОНОМИД СЕМ. CHIRONOMIDAE (DIPTERA)

Петрова Н. А.

Зоологический институт РАН, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб. д. 1  
[chironom@zin.ru](mailto:chironom@zin.ru)

Приводятся детальные описания политенных хромосом 153 видов из 32 родов хирономид (Chironomidae) России, Армении, Казахстана, Украины, Таджикистана, Болгарии, Венгрии, Италии и 3-х африканских стран Нигерии, Малави и Южной Африканской республики. Анализ политенных хромосом проводился совместно с изучением морфологических особенностей личинок. При описании видов отмечено несколько групп с разными цитогенетическими особенностями. 1) Среди Diamesinae, Tanypodinae и Orthocladiinae обнаружены группы видов, у которых наблюдается центромерная недорепликация (диминуция). При приготовлении препаратов образуется псевдохромоцентр, который распадается и связь между центромерным гетерохроматином слабеет, в результате самостоятельность плеч увеличивается и плечи вступают в разные ассоциации друг с другом. 2) Большинство видов хирономид (Chironominae) имеет  $2n=8$  (AB, CD, EF и G), 12 видов имеют  $2n=6$ . Эти виды произошли путем теломерного слияния малой хромосомы G с теломерой короткого плеча E хромосомы III, с получением CEF ( $2n=6$ ) (AB, CD, GEF). Во вновь образованной хромосоме сохранилась центромера 1V, перешедшее в латентное состояние, а центромера хромосомы GEF осталась действующей. 3). Часто встречаются В-хромосомы или добавочные хромосомы. 14 В-хр значительно короче А-хромосом. Они как правило не влияют на внешнюю морфологию особи, на скорость развития личинок, чем крупнее В-хр. в геноме, тем реже встречаются такие особи, они варьируют от компактной, с отчетливым рисунком дисков, до массы гетерохроматиновых глыбок, намечается связь В-хр. с загрязнением водоёма. Замечено, что число В-хр. увеличивается в экстремальных условиях. Была высказана гипотеза о происхождении В-хр. из ядрышкового района. 4). В природе геномные мутации встречены у единичных особей. Речь идет о гетерохроматиновых узлах или knob. Образование таких утолщений объясняется амплификацией гетерохроматиновых районов или сальтационными дупликациями. Все перечисленные цитогенетические изменения значительно расширяют наши знания о биологическом разнообразии видов в природе.

Работа выполнена при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем и биологические ресурсы России» (подпрограмма «Генофонды живой природы и их сохранение»).

## ИЗМЕНЧИВОСТЬ ДУБОВЫХ ПОПУЛЯЦИЙ В КОЛХИДСКОЙ НИЗМЕННОСТИ ГРУЗИИ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ

Тодуа В.А.<sup>1</sup>, Джабнидзе Р.С.<sup>2</sup>, Тедорадзе Л.Р.<sup>1</sup>, Берикашвили Д.С.<sup>3</sup>, Цквитая С.Р.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Сухумский Государственный Университет. Грузия, Тбилиси. ул. Политковская 12;

<sup>2</sup> Батумский Государственный Университет. Грузия, Батуми, ул. Ниношвили 35;

<sup>3</sup> Министерство по исполнению наказаний, probation и юридической помощи. Грузия, Тбилиси, ул. Эули 3; <sup>4</sup> Грузинский Технический Университет. Грузия, Тбилиси, ул. Костава 77;

[vaja.todua@yahoo.com](mailto:vaja.todua@yahoo.com)

Территория Колхиды до сегодняшнего дня сохраняет богатые коллекции Грузинских дубов, среди которых встречаются эндемичные и реликтные виды. Она славится тем, что здесь растут долголетние деревья дубов. Здесь выявлены и реликтовые виды дубов: Грузинский, Имеретинский, Чорохский, Гартвиса и др. Охарактеризованы видовой состав и местообитание, изменчивость и приспособленность к различным климатическим условиям среды.

В Колхиде, произрастают и растут множество отдельных деревьев из рода дуб, получивших широкую известность из-за своего возраста, размера, или же по иным уникальным причинам. Например, в селе Лихни (Абхазия) стоит 760-ный грузинский дуб "памятник" – *Quercus iberica* ( $2n=24$ ) высотой до 20 м. Из популяции дубов особо выделяется эндем Грузии – Дуб Имеретинский (*Q. imeretina* Stev.) ( $2n=24$ ) дерево до 30 м высоты, известен из Абхазии, Рача-Лечхуми, Менгрелии и Гурии.

Колхидскую низменность украшает реликт Дуб Чорохский (*Q. dschorochensis* C. Koch.) ( $2n=24$ ). Сегодня в Грузии данный вид встречается только в Аджарии, в долинах рек Чорохи и Ачарисцхали. В Западной Грузии (Абхазия, Рача-Лечхуми, Менгрелии, Имерети, Аджария) растет Дуб Гартвиса – *Quercus Hartwissiana* Stev., высотой до 25 м. Дуб Гартвиса характеризуется как древнейший уникальный вид Грузинской флоры. В Колхиде обитает Дуб Понтийский – *Quercus pontius*: листопадное дерево. В естественных условиях произрастает на Западной части Грузии (Колхида). Введен в культуру с 1885 года. Вид описан с Понтийского хребта в районе Ризе. Высокодекоративен.

С точки зрения генетики, совокупность признаков и свойств, из которых складывается наследственная основа организма дуба, можно назвать его генотипом. Внешнее проявление этих свойств составляет его фенотип. Задача генетика и селекционера довольно трудна, так как изменения, наблюдаемые у растений дубов, является результатом сложных взаимодействий между наследственностью и средой, протекающих на протяжении всего цикла их развития. Эти изменения дубов, растущих в различных участках Колхиды могут возникать вследствие наследственных различий, разных влияний среды на отдельные генотипы и изменений самой среды.

Сегодня кора дуба с успехом используется как в нетрадиционной медицине, так и в официальном лечении некоторых заболеваний. В современной фармакологии чаще применяется экстракт коры дуба, а в основе народных рецептов – отвары, мази и настои. Преимущество коры дуба как косметического средства в том, что стоит недорого, есть в любой аптеке, а готовить – легко и быстро.

[1] Буш Н.А. Ботанико-географический очерк Кавказа. М.-Л., Изр. АН СССР, 1935, 192.

[2] Гросгейм А.А. Анализ флоры Кавказа. Тр. Бот. ин-та Азерб. филиале АН ССР. Баку, Изд. Аз. фил. АН СССР, 1936, 1-260.

[3] Гросгейм А.А. Растительный покров Кавказа, 1948, изд. МОИП:1-268.

[4] Долуханов А.Т. Колхидский подлесок «Мецниереба», 1980, 361.

[5] Тодуа В.А., Берикашвили Д.С., Цквитая С.Р. Фитотерапия. 2016 г. 342 с.

## АНАЛИЗ УРОВНЯ СПОНТАННОГО МУТАГЕНЕЗА В РАЙОНАХ КУРСКОЙ ОБЛАСТИ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ПОСЛЕДСТВИЙ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС

Трубникова Е.В.<sup>1</sup>, Комкова Г.В.<sup>1</sup>, Железнова М.А.<sup>1</sup>, Шульгин И.Ю.<sup>1</sup>, Нгуен Т.Х.

<sup>1</sup>Курский государственный университет, Россия, г. Курск, ул. Радищева, д. 33

[tr\\_e@list.ru](mailto:tr_e@list.ru)

Изучение хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов крови проводилось в 7 районах и 2 городах Курской области: Октябрьский, Фатежский, Поньровский, Дмитриевский, Хомутовский, Железногорский, Золотухинский, г.Курск, г.Железногорск.

Отбор обследованных лиц проводился с учетом такого фактора, как проживание на территории, подвергшейся радиационному воздействию после аварии на ЧАЭС (Фатежский, Поньровский, Дмитриевский, Хомутовский, Железногорский, г.Железногорск). Контрольная группа представлена жителями г. Курска. Дополнительно были обследованы жители Октябрьского и Золотухинского районов с целью оценки уровня спонтанного мутагенеза на данный момент времени.

Контрольная группа включала 44 культуры крови человека от 22 доноров, т.е. по 2 культуры на человека. Возраст обследуемых был от 20 до 62 лет, что составило по полу 54.6% - мужчин, 45,4% - женщин. Донорами явились здоровые лица (не курящие, не злоупотребляющие алкоголем, не проходившие рентгенологические исследования в течение последних трех месяцев, не имевшие вирусных заболеваний в течение последних трех месяцев, не принимавшие сильнодействующих препаратов в течение последних трех месяцев), работники непромышленной сферы. Единицей наблюдения являлся каждый индивидум; учитывались количество клеток с aberrациями, количество aberrаций, в том числе хроматидного (фрагменты, обмены) и хромосомного (фрагменты, обмены) типов. Всего проанализировано 2200 клеток (мужчины – 1200 клеток; женщины – 1000 клеток) – контроль. В экспериментальную группу были включены образцы от 80 человек, что составило 8000 клеток.

Кагорта обследуемых была представлена, в основном, работниками непромышленной сферы и сельского хозяйства. Отбор обследованных лиц проводился с учетом факторов, которые могли оказать влияние на частоты цитогенетических показателей, что нашло отражение в разработанной анкете.

Культивирование лимфоцитов периферической крови обследованных лиц проводилось общепринятым методом, предложенным Hungerford и Moorhed с небольшими модификациями. Соблюдались единые условия забора крови, культивирования и фиксации. Забор крови производился в стерильные флаконы, содержащие гепарин в соотношении 1:20. Культивирование крови проводилось в течение 48 – 50 часов при температуре 37<sup>0</sup>С. За 2 часа до фиксации в культуральную смесь вводили раствор колхицина в конечной концентрации 0,5 мкг/мл. Фиксацию культур проводили общепринятым методом. Препараты готовили раскапыванием осадка клеточной суспензии на влажные охлажденные стекла; после высушивания окрашивали азур-эозином и шифровали. От каждого обследуемого лица анализировали до 100 метафаз.

Банк данных формировался и обрабатывался статистически с использованием программ STATISTICA 10.0.

Анализ результатов исследования включал традиционные методы стандартной статистики с оценкой среднего количества клеток с aberrациями, хромосомных aberrаций (включая все типы) и их ошибок. Оценка достоверности проводилась с помощью t-критерия Стьюдента и F – критерия Фишера.

Критерием радиационного воздействия считали достоверное повышение общей частоты хромосомных aberrаций, в том числе aberrаций хромосомного типа (парные фрагменты и

хромосомные обмены) по сравнению с контролем и среднепопуляционным уровнем. Одиночные фрагменты и хроматидные обмены учитывались как индуцированные химическими мутагенами.

Нами было установлено, что уровень спонтанного мутагенеза для жителей города Курска был равен  $1,91 \pm 0,35$  %, он находится в интервале нормы спонтанного мутагенеза (1-3%) и не превышает общий уровень по Российской Федерации (2,13 в конце 90-х – начале 2000 годов). Также в пределах нормы находится уровень спонтанного мутагенеза у жителей Октябрьского, Поныровского, Дмитриевского и Хомутовского районов. У жителей Фатежского и Железнодорожного районов, а также у жителей г. Железнодорожск уровень спонтанного мутагенеза превышает установленные нормы в 2-3 раза.

Таким образом, в результате исследования был рассчитан уровень спонтанного мутагенеза у жителей районов Курской области, подвергшихся воздействию аварии на Чернобыльской АЭС в сравнении с показателями уровня спонтанного мутагенеза у жителей города Курска. На основании полученных данных можно сделать вывод, что часть населения этих районов в настоящее время хронически подвергается воздействию неблагоприятных антропогенных факторов сочетанной природы.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Федерального агентства по делам молодежи в рамках Всероссийского конкурса молодежных проектов среди образовательных организаций высшего образования в 2018 году»

## ОСОБЕННОСТИ КАРТИНЫ ПОЛИМОРФИЗМА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ ПРИ ФАКУЛЬТАТИВНОМ ПОЛОВОМ РАЗМНОЖЕНИИ

Щербаков Д.Ю.<sup>1,2</sup>, Букин Ю.С.<sup>1,2</sup>, Порошина А.А.<sup>1,2</sup>, Перетолчина Т.Е.<sup>1</sup>, Минчева Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Лимнологический институт СО РАН, Россия, 664033 Иркутск, Улан-Баторская 3;

<sup>2</sup>Биолого-почвенный факультет Иркутского государственного университета, Россия, 664003 Иркутск, Сухэ-Батора 5

[sherb@lin.irk.ru](mailto:sherb@lin.irk.ru)

Многие виды организмов способны размножаться как половым путем, так и вегетативно. В зависимости от условий окружающей среды, демографических и других факторов, соотношение способов размножения может меняться в широких пределах, вплоть до полного вытеснения одного из них. Примеры сосуществования в рамках одной популяции разных типов размножения многочисленны, это присуще многим ракообразным, растениям, простейшим, позвоночным и т.д. В случае факультативного полового размножения генетическое разнообразие формируется в результате конкуренции клонов - потомков зигот. В зависимости от доли полового размножения должен изменяться характер и размах генетического разнообразия. Более всего эти различия должны сказываться на характере полиморфизма наиболее "быстрых" маркеров - микросателлитов и SNP.

Настоящее сообщение посвящено моделированию искажений, возникающих в популяциях сц смешанным типом размножения при разных соотношениях полового и бесполого размножения. Для этого применили метод индивидуально-ориентированного имитационного моделирования. Он учитывает индивидуальные параметры каждой особи (длина микросателлитного маркера, возраст, пол, вероятность точечной мутации, количество потомков и т.д.), вероятность полового размножения, всяющие на вероятность выживания экологические обстоятельства, которое мы реализовали через максимальную емкость среды. Для того, что бы отслеживать различные изменения в геномах особей, в качестве маркера были использованы микросателлитные локусы, которые генерируются случайно с каждым новым запуском модели.

Показано, что для популяции, существующей в постоянных условиях, сдвиг в сторону уменьшения вероятности полового процесса приводит к увеличению доли гетерозигот по сравнению ожидаемой для мультиаллельного микросателлитного локуса. Переход к исключительно половому размножению сказывается медленно.

Гораздо более чувствительным к балансу полового и бесполого размножения оказался случай мультилокусного анализа, поскольку наблюдаемый коэффициент сцепления существенно увеличивается при переходе к бесполому размножению. Обсуждаются различные метрики генетического разнообразия и их применимость в реальных ситуациях.

На примере данных по полиморфизму микросателлитных маркеров у нескольких групп растений и животных Байкала показана применимость разработанных методов определения соотношения типов размножения.

## НЕОДНОРОДНОСТЬ РАССЕЛЕНИЯ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП ПО ТЕРРИТОРИИ МЕГАПОЛИСА КАК ФАКТОР ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПОПУЛЯЦИИ

Грачева А.С., Победоносцева Е.Ю., Удина И.Г., Курбатова О.Л.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, 119991, Москва, ул. Губкина, д. 3  
[palesa@yandex.ru](mailto:palesa@yandex.ru)

В мегаполисах издавна существовала неравномерность расселения этнических и этноконфессиональных групп на городской территории (вплоть до образования «этнических» анклавов»), что обуславливает генетическую дифференциацию популяции по маркерам, частоты которых проявляют этническую специфику. Уровень подразделенности популяции по этническому признаку проанализирован для трех самых крупных мегаполисов России: Москвы, Санкт-Петербурга и Новосибирска. На основе данных Всероссийской переписи населения 2010 г. рассчитаны частоты наиболее многочисленных этнических групп в городских административно-территориальных единицах. Построены графики, отражающие неравномерность расселения этнических групп по городским округам или районам, и для каждого мегаполиса выделены районы компактного расселения этнических меньшинств. Наибольшим уровнем этнического разнообразия в Москве характеризуются районы: Арбат (Центральный административный округ), в котором минимальна доля русских (71%) и широко представлены армяне, евреи, татары, украинцы, азербайджанцы, грузины, молдаване, корейцы, белорусы, китайцы, чеченцы, киргизы; Западное и Восточное Бирюлево (Южный административный округ) с высокой долей азербайджанцев, таджиков и узбеков. В Санкт-Петербурге выделяется этническим разнообразием Курортный район с повышенной долей таджиков, узбеков, киргизов, молдаван, а в Новосибирске – Дзержинский район, где больше представлены киргизы, таджики, узбеки, казахи и азербайджанцы.

Для этнических групп, наиболее неравномерно распределенных по территории мегаполиса, построены карты, отражающие «этническую топографию» города. Уровень генетической дифференциации популяции рассчитан при помощи статистики  $F_{st}$  с использованием частоты встречаемости этнической группы в городском районе в качестве «квазигенетического» маркера. При рассмотрении крупных территориальных единиц наибольшее значение  $F_{st} \times 10^2$  характерно для Новосибирска (0.313), наименьшее – для Москвы (0.077), среднее – для Санкт-Петербурга (0.193).

Полученные данные свидетельствуют о компактном расселении отдельных этнических групп по территории изученных мегаполисов, что необходимо учитывать при формировании генетических баз данных для целей ДНК-идентификации.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания ИОГен РАН 0112-2016-0002 «Исследование генофондов и популяционно-генетическая структура животных, растений и человека» и в рамках Мероприятия 10 научно-технической программы Союзного государства «ДНК-идентификация».

## ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ АНТИГЕНОВ (ABO) У ТУВИНЦЕВ

Доржу Ч.М.<sup>1</sup>, Ховалыг А.О.<sup>1</sup>, Донгак М.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Тувинский государственный университет», Российская Федерация, г. Кызыл, ул. Ленина, 36

*choduraa2003@mail.ru, aldyn@mail.ru, dongakmariya@mail.ru*

Установление особенностей распределения эритроцитарных антигенов (ABO) среди представителей разных этнических групп имеет большое научное и практическое значение.

Изучение генетической структуры народонаселения Тувы с использованием классических маркерных систем проводилось несколькими группами исследователей (Рычков и др., 1969; Богданова, 1985; Санчат, 1998; Пузырев и др., 1999). Наиболее изученной оказалась система ABO, для которой получена информация по семи территориальным группам. Однако эта информация не охватывает полностью территорию Тувы и носит лишь фрагментарный характер. Именно в этой связи, нам представлялось актуальным провести тотальное исследование генетической структуры народонаселения Тувы по группам крови.

Изменчивость по локусу ABO нами была изучена у 2989 человек, из них у 1300 человек группы крови были определены нами самостоятельно, а по 1689 – данные были предоставлены ГБУЗ РТ «Перинатальный центр».

Для тувинских популяций был показан высокий размах изменчивости частот аллелей по данному локусу: частота аллеля  $r$  варьировала в пределах 0,50-0,68, аллеля  $p$  – 0,15-0,38, аллеля  $q$  – 0,10-0,21 (Пузырев и др., 1999). Полученные нами данные также свидетельствуют о высоком уровне полиморфизма популяций жителей всех кожуунов Республики Тыва. Наблюдаются отличия от предыдущих исследований в пределах частот аллеля  $r$  (O), варьировавших в пределах 0,46 - 0,84; аллеля  $r$  (A) – 0,08- 0,38; аллеля  $q$  (B) 0,06 – 0,19.

По локусу ABO показано, что наибольшее отличие наблюдается в Тоджинской популяции, которая характеризуется самой низкой частотой аллелей  $r$  (O) - 0,46 во всей республике, тогда как для большинства других тувинских популяций частота данного аллеля преобладает над другими. Кроме того, Тоджинская популяция отличается заметно высокой частотой  $p$  (A) – 0,38 и соответственно, преобладанием частоты аллеля  $p$  (A) над  $q$  (B). Для большинства других тувинских популяций, где также наблюдается преобладание частоты аллеля  $p$  (A) над  $q$  (B), оно совсем незначительно.

В Бай-Тайгинском, Дзун-Хемчикском, Овюрском кожуунах наблюдается обратное соотношение по данным аллелям, т.е. преобладание частоты аллеля  $q$  (B) над  $p$  (A). Среди изученных популяций максимальная частота аллеля  $r$  (O) – 0,84 показана для населения Монгун-Тайгинской популяций, которая характеризуется соответственно самыми низкими оценками частот  $p$  – 0,08 и  $q$  – 0,08.

Сравнения популяций по критерию идентичности показало, что между Монгун-Тайгинской и Тоджинской, Тандинской, и популяцией г. Кызыла наблюдается наиболее значимые различия.

Полученные нами данные показали определенную географическую закономерность, выражающуюся в том, что наблюдается уменьшение частоты встречаемости аллеля  $r$  (O), с запада на восток. Эту геногеографическую закономерность можно увидеть на карте, впервые составленной нами.

## РОЛЬ РОДОПЛЕМЕННОЙ СТРУКТУРЫ В ФОРМИРОВАНИИ АРХИТЕКТониКИ ГЕНОФОНДА КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Жабагин М.К.<sup>1,2</sup>, Балановский О.П.<sup>2,3,4</sup>, Сабитов Ж.М.<sup>5</sup>, Акильжанова А.Р.<sup>1</sup>,  
Балановская Е.В.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>National Laboratory Astana, Назарбаев Университет, Казахстан, Астана, 010000;

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Москва, 119991; <sup>3</sup>Медико-генетический научный центр, Россия, Москва, 115478; <sup>4</sup>Биобанк Северной Евразии, Россия, Москва, 115201; <sup>5</sup>Евразийский Национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Казахстан, Астана, 0100007

[balanovsky@inbox.ru](mailto:balanovsky@inbox.ru), [mzhabagin@gmail.com](mailto:mzhabagin@gmail.com)

Структура казахской популяции состоит из родоплеменных групп. Члены каждой родоплеменной группы утверждают, что восходят к своему общему предку. Принадлежность индивида к родоплеменной группе продиктована традицией патрилинейности и патрилокальности популяции. Y-хромосома является одной из эффективных генетических систем в изучении связи биологического явления – межпопуляционных различий – с его вероятными демографическими и историческими причинами в популяциях с родоплеменной системой.

С целью изучить изменчивость Y-хромосомы в популяциях казахов и связь структуры генофонда с родоплеменной структурой населения, было исследовано 19 популяций казахов по 17-STR и 44 SNP маркерам Y-хромосомы. Общая выборка составила ~2000 индивидов, согласно родоплеменной принадлежности представляющих 14 групп. Для некоторых родоплеменных групп для верификации генеалогических легенд были секвенированы 10 млн. п.н. нереккомбинирующей части Y-хромосомы. Кроме того, по статистическому своду переписи расселения родоплеменных групп казахов конца XIX века проведен анализ методом изонимии.

В результате, методом AMOVA выявлено, что различия между родоплеменными группами в 1.5 раза больше, чем между географическими популяциями, а тест Мантеля демонстрирует наличие достоверной корреляции между генетическими и квазигенетическими (частота родов в популяциях) расстояниями и ее отсутствие между генетическими и географическими расстояниями. Этот же результат демонстрируют геногеографические карты, где ареал расселения 50 казахских родоплеменных групп выявляют сходные закономерности с картами генетических расстояний и частотами распределения гаплогрупп Y-хромосомы [1].

Верификация генеалогических легенд родоплеменных групп (на примере кожа-сунак [2] и аргын [3]) с помощью полиморфизма Y-хромосомы демонстрирует широкие возможности использования генетических данных для других популяций, где также сохраняется родоплеменная структура.

[1] Жабагин и др., Реконструкция структуры генофонда казахов по данным об их родорасселении. // 2018, Вавиловский журнал генетики и селекции, Т.22(7), С.895-904.

[2] Zhabagin et al., The Connection of the Genetic, Cultural and Geographic Landscapes of Transoxiana // 2017, Scientific Reports, V.7(1), №3085.

[3] Жабагин и др., Генезис крупнейшей родоплеменной группы казахов - Аргынов - в контексте популяционной генетики. // 2016, Вестн. Моск. ун-та. Сер. XXIII. Антропология, №4. С.59-68.

**Благодарности:** Работа была выполнена при поддержке КН МОН РК №AP0513499 и проектов РФФИ

## СТРУКТУРА РУССКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ПО ДАННЫМ ПРОЕКТА «РОССИЙСКИЕ ГЕНОМЫ»

Жернакова Д. В.<sup>1</sup>, Евсюков И.<sup>1</sup>, Жук А.<sup>1</sup>, Добрынин П.<sup>1</sup>, Малов С.<sup>1</sup>, Черкасов Н.<sup>1</sup>, Г. Тамазян<sup>1</sup>, М. Роткевич<sup>1</sup>, К. Крашенинникова<sup>1</sup>, А. Горбунова<sup>1</sup>, А. Шевченко<sup>1</sup>, А. Комиссаров<sup>1</sup>, С. Симонов<sup>1</sup>, А. Логачёв<sup>1</sup>, А. Новожилов<sup>2</sup>, Т. К. Олексик<sup>1</sup>, К. П. Кёпфли<sup>1</sup>, В. Брюхин<sup>1</sup>, С. О'Брайен<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Центр геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского, С-Петербургский Государственный Университет, С-Петербург, Средний проспект 41, 199004, Россия; <sup>2</sup>Кафедра этнографии и антропологии, С-Петербургский Государственный Университет, С-Петербург, Университетская наб. 7/9, 199034, Россия  
[dashazhernakova@gmail.com](mailto:dashazhernakova@gmail.com)

В настоящее время в Российской Федерации проживают около 146 млн. человек, 80% которых считают себя этническими русскими, а остальные принадлежат к разнообразным этническим меньшинствам. Несмотря на огромное население и его этническое разнообразие, ещё не создана референсная база данных геномных вариантов различных этнических групп с территории России. Такая база данных необходима для внедрения персонализированной прецизионной медицины в России, а также для детального изучения путей миграций и оседлости российских народов и их генетического родства с другими популяциями мира. Проект «Российские геномы» нацелен на решение этой проблемы путём полногеномного секвенирования геномов представителей различных этнических и территориальных групп, проживающих в Российской Федерации. Важная роль в проекте отведена изучению наиболее многочисленной группы населения – а именно этнических русских, проживающих в различных регионах. Для изучения истории происхождения и смешения народов, мы исследовали структуру популяций этнических русских по данным их геномов. На данный момент в рамках проекта отсеквенировано 332 генома, в том числе геномы 193 этнических русских из 8 регионов: Архангельской, Псковской, Новгородской, Владимирской, Ярославской, Воронежской, Ростовской областей и Удмуртии. После проведения контроля качества, выравнивания прочтений и генотипирования образцов, были проведены исследования структуры популяций с помощью таких методов как Admixture, fineSTRUCTURE, f3 и D статистики. Результаты исследования показывают сравнительную однородность русских популяций с несколькими исключениями. Этнические русские, проживающие в Архангельской области и в Удмуртии сильно отличаются от остальных русских и имеют высокий процент сходства с финно-угорскими народами. Геномы жителей Псковской области показывают сильное смешение с эстонцами. Русские с территории юга европейской части России оказываются ближе к жителям Западной Европы, чем остальные. Таким образом, исследование геномов этнических русских в рамках проекта «Российские геномы» позволило исследовать структуру русских популяций и выделить особенности жителей отдельных регионов. Благодарности: Данная работа была выполнена при поддержке Санкт-Петербургского университета (грант 1.52.1647.2016). Секвенирование было проведено в Центре Биобанк Ресурсного Центра СПбГУ. Анализ данных проводился на базе Вычислительного Центра Ресурсного Центра СПбГУ.

## ОСОБЕННОСТИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОГО МЕХАНИЗМА ЯРОВИЗАЦИОННО-ОПОСРЕДОВАННОГО ПЕРЕХОДА К ЦВЕТЕНИЮ *Arabidopsis thaliana* СЕВЕРНЫХ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

Зарецкая М.В., Федоренко О.М., Топчиева Л.В., Лебедева О.Н.

Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук,

Россия, Петрозаводск 185910, Пушкинская 11

[genmg@mail.ru](mailto:genmg@mail.ru)

Время начала цветения и потребность в яровизации – адаптивно значимые признаки растений. Они имеют полигенный контроль, однако согласно *FLC-VIN3* – регуляторной модели, предложенной в последнее время [1], именно эти два гена играют ведущую роль в яровизационно-опосредованном переходе к цветению. Северные природные популяции *A. thaliana* (Карелия) представлены в основном поздноцветущими формами растений. В некоторых популяциях встречаются и раннецветущие формы этого вида, к тому же сроки начала цветения растений существенно варьируют. Возможно разнообразие признака «время начала цветения» *A. thaliana* в карельских популяциях может быть обусловлено особенностями транскрипционной активности генов *FLC* и *VIN3*. Анализ уровня транскриптов мРНК *FLC* и *VIN3* до холодового воздействия и после яровизации (10, 20, 30 или 40 дней) показал различия в динамике генной экспрессии для изученных популяций, представленных поздноцветущими формами с одной стороны, и популяции, смешанной по времени зацветания растений, с другой. Установлен низкий уровень экспрессии *FLC* у растений всех исследованных популяций до холодового воздействия и усиление ее на 10-й день яровизации с последующим снижением к 30-му дню. Длительное воздействие холода вызывает усиление первоначально низкой экспрессии *VIN3* в популяциях, представленными поздноцветущими растениями на 30-й день яровизации, а в смешанной по времени зацветания растений популяции – на 40-й день. Особенным образом представлена динамика экспрессии генов *FLC* и *VIN3* в процессе яровизации у S1-потомства одного раннецветущего растения, при этом экспрессия *FLC* у них изменяется согласно классическим представлениям [2], [3]: первоначально высокий уровень транскриптов мРНК *FLC* в процессе яровизации снижается. Предполагается, что механизмы контроля темпов зацветания, и гены, вовлеченные в этот процесс, могут различаться у растений популяций разных географических регионов.

[1]. Lee J., Yun J.Y., Zhao. W. et al. A methyltransferase required for proper timing of the vernalization response in *Arabidopsis* // 2015, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., V. 112, P. 2269–2274.

[2]. Michaels S.D., Amasino R.M. *FLOWERING LOCUS C* encodes a novel MADS domain protein that acts as a repressor of flowering // 1999, The Plant Cell., Vol. 11, P. 949–956.

[3]. Heo J.B., Sung S. Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA // 2011, Science, V. 331, P. 76–79.

## ДИНАМИКА ЧАСТОТЫ ГЕНОТИПА ГОМОЗИГОТНОГО ПО ПОЛУЛЕТАЛЬНОМУ АЛЛЕЛЮ Gdh-1<sup>1</sup> У ПОТОМСТВА ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ РАЗНОЙ ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ

Камалова И.И., Внукова Н.И., Сердюкова А.П., Клушевская Е.С.

ВНИИЛГИСбиотех, Россия, Воронеж, ул. Ломоносова, 105

*kamairi@yandex.ru*

Выявление у лесных древесных видов генов, связанных с устойчивостью к факторам среды приобретает всё большее значение в условиях ежегодного сокращения площадей покрытых лесом. Такими генами могут быть полулетальные аллели, способные по концепции В.А. Струнникова формировать у особи комплекс генов повышенной жизнеспособности. Ранее нами было показано, что у сосны обыкновенной аллель Gdh-1<sup>1</sup> гена кодирующего фермент глутаматдегидрогеназу, является эмбриональным полулеталем.

Методом изоферментного анализа изучена генетическая структура локуса Gdh в потомстве (пулах зародышей семян, сеянцах и саженцах) деревьев сосны контрастных по засухоустойчивости. Объектом исследования была сосна обыкновенная острогожской популяции (Воронежская обл.), подбор деревьев проведён Н.Ф.Кузнецовой.

Пятилетние исследования урожаев семян выявили существенные различия генетической структуры локуса Gdh между пулами зародышей семян от деревьев различающихся засухоустойчивостью. Пулы зародышей от устойчивых к засухе деревьев характеризовались в 2 раза большей долей гомозиготного по полулетальному аллелю генотипа Gdh-1<sup>1</sup>/Gdh-1<sup>1</sup> и стабильностью генетической структуры локуса Gdh по годам (CV по годам = 10,0 %). У потомства чувствительных деревьев, в зависимости от погодных особенностей периода формирования урожая, выявлена значительная погодичная динамика частоты гомозиготного генотипа Gdh-1<sup>1</sup>/Gdh-1<sup>1</sup> (CV по годам = 40 %).

У четырёхлетних сеянцев, произрастающих в емкостях (9 семей деревьев разной засухоустойчивости) зафиксировано увеличение доли гомозиготного генотипа Gdh-1<sup>1</sup>/Gdh-1<sup>1</sup> в сравнении с пулом зародышей того же года урожая - соответственно с 8,9 до 22,9%.

У пятилетних саженцев (полусибсы от свободного опыления устойчивых к засухе деревьев), произрастающих с 4-х лет в открытом грунте, наблюдалось 20%-ное увеличение доли гомозиготного генотипа Gdh-1<sup>1</sup>/Gdh-1<sup>1</sup> по сравнению с пулом зародышей урожая семян того же года. Стресс, вызванный пересадкой в открытый грунт в условиях пониженной влагообеспеченности, выявил повышенную адаптацию к неблагоприятным условиям у саженцев с однолокусным генотипом Gdh-1<sup>1</sup>/Gdh-1<sup>1</sup>.

В 2 раза большая доля гомозиготных генотипов Gdh-1<sup>1</sup>/Gdh-1<sup>1</sup> в урожаях семян устойчивых к засухе деревьев по сравнению с чувствительными, увеличение частоты этого генотипа у потомств в онтогенезе и при стрессовой адаптации свидетельствует о более высокой жизнеспособности особей с таким генотипом. Таким образом, полулетальный аллель Gdh-1<sup>1</sup> в гомозиготном состоянии способен формировать компенсационный комплекс генов, обеспечивающий неспецифическую устойчивость у сосны обыкновенной.

## РОЛЬ НЕЙРОГОРМОНАЛЬНОЙ СТРЕСС-РЕАКЦИИ В ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ *DROSOPHILA VIRILIS*

Карпова Е.К., Раушенбах И.Ю., Груntenко Н.Е.

ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, пр-т акад. Лавреньева, 10

[karpova@bionet.nsc.ru](mailto:karpova@bionet.nsc.ru)

Нейроэндокринная стресс-реакция является универсальным и эффективным способом защиты организмов от стрессорных воздействий. У насекомых стресс-реакция была впервые описана как универсальный комплекс эндокринных реакций организма Раушенбах с соавторами в 1987 году [1]. Показано, что особи, реагирующие на неблагоприятные воздействия стресс-реакцией (R-особи), прекращают откладку яиц в ответ на стрессорное воздействие. Это, по-видимому, позволяет популяции «переждать» неблагоприятные условия, способствуя тем самым адаптации на популяционном уровне [2]. Однако при проведении мониторинга природных популяций *D. melanogaster* по способности развивать стресс-реакцию, было обнаружено, что в них с высокой частотой встречаются особи, не способные к её развитию (NR-особи). Была выдвинута гипотеза о том, что сбалансированность популяций по R- и NR-аллелям обеспечивает их адаптацию при существовании популяции в природных условиях [2]. Целью данной работы являлась проверка этой гипотезы экспериментальным путём. Для этого проводились исследования характеристик приспособленности (продолжительности жизни, плодовитости) R и NR линий *D. virilis* в нормальных условиях и при регулярном тепловом стрессировании различной периодичности. Изучение репродуктивных характеристик R- и NR-особей показало, что в нормальных условиях преимущество в оставлении потомства имеют первые. В неблагоприятных условиях, если стрессор достаточно интенсивен, NR-особи погибают, но если его интенсивность невелика, то они, в отличие от R-особей, продолжают оставлять потомство. Результаты исследования свидетельствуют в пользу выдвинутой ранее теории.

[1]. Rauschenbach, I.Y., Lukashina, N.S., Maksimovsky, L.F., Korochkin, L.I., Stress-like reaction of *Drosophila* to adverse environmental factors. // 1987, *Journal of Comparative Physiology B*, V.157, P.519-531.

[2]. Rauschenbach I.Yu., Gruntenko N.E., Khlebodarova T.M., Mazurov M.M., Grenback L.G., Sukhanova M.Jh., Shumnaja L.V., Zakharov I.K., Hammock B.D., The role of the degradation system of the juvenile hormone in the reproduction of *Drosophila* under stress. // 1996, *J.Insect Physiol.*, V.42, P.735-742.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-04-00458.

## РЕГИОНАЛЬНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОЛОДИ ГОРБУШИ *ONCORHYNCHUS GORBUSCHA* (WALBAUM) БАССЕЙНА ОХОТСКОГО МОРЯ ПО МАТЕРИАЛАМ ОСЕННЕЙ ТРАЛОВОЙ СЪЕМКИ 2018 г.

Косицына А.И.<sup>1</sup>, Шпигальская Н.Ю.<sup>1</sup>, Сараванский О.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Камчатский филиал ФГБНУ «ВНИРО»,

Россия, г. Петропавловск-Камчатский, ул. Набережная, 18

[kositsyna.a.i@kamniro.ru](mailto:kositsyna.a.i@kamniro.ru)

Как известно, горбуша наиболее многочисленный вид тихоокеанских лососей, характеризующийся сложно прогнозируемой динамикой численности. По сравнению с другими лососями этот вид имеет слабо выраженную популяционно-генетическую дифференциацию. Несмотря на многолетние исследования, до сих пор не выявлены эффективные популяционно-генетические маркеры. Значимая дифференциация подтверждена только на уровне региональных комплексов стад, при этом вероятность региональной идентификации горбуши линии нечетных лет находится на более низком уровне, чем четных.

Ежегодно перед рыбохозяйственной наукой ставится задача оценки регионального состава смешанных морских выборок молоди горбуши в ранний период нагула для уточнения прогнозных оценок нерестового возврата в регионы воспроизводства. Данные исследования выполняются с 2009 г., их результаты адекватно соотносятся с оценками региональных подходов в Охотоморском бассейне.

Объем обработанного материала в представленном исследовании составляет шестнадцать выборок (1087 экз.) из траловых уловов осенней съемки в Охотском море в 2018 г. Для определения доли особей из различных регионов воспроизводства охотоморского бассейна выполнен анализ полиморфизма длин рестриктных фрагментов участка *Cytb/D-loop* мтДНК. Реперная база данных, используемая для региональной идентификации, включает 26 выборок (1648 экз.) из нерестовых водоемов горбуши линии нечетных лет. Следует отметить отсутствие в реперной базе выборок из водоемов некоторых относительно значимых регионов бассейна Охотского моря — Японские острова, р. Амур, Хабаровский край и Приморье. Симуляционный анализ и идентификация региональных групп в составе смешанных выборок выполнены с использованием программы SPAM. Наиболее точные оценки получены при определении принадлежности к трем региональным группам: 1) Западная Камчатка и материковое побережье Охотского моря, 2) о. Сахалин, 3) о. Итуруп (Курильские о-ва); оценки точности определения региональной принадлежности составили: 73,6%, 74,8% и 89,7%, соответственно.

В целом, полученные результаты генетической идентификации молоди горбуши свидетельствуют о том, что в исследованном районе Охотского моря в октябре 2018 г. преобладали особи из северных регионов воспроизводства — Западная Камчатка и северная часть материкового побережья Охотского моря.

## ПОПЫТКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ ЧЕЛОВЕКА

Лазебный О.Е.<sup>1</sup>, Фокин А.В.<sup>1</sup>, Бутовская П.Р.<sup>2,3</sup>, Куликов А.М.<sup>1</sup>, Бутовская М.Л.<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, Россия, Москва, 119334, ул. Вавилова, 26; <sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Москва, 119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, 3; <sup>3</sup>Universitat de Barcelona, Spain, Barcelona, 08007, Gran Via de les Corts Catalanes, 585; <sup>4</sup>Институт этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая Российской академии наук, Россия, Москва, 119991, Ленинский проспект, 32а; <sup>5</sup>Национальный исследовательский университет Высшая школа экономики, Россия, Москва, 101000, ул. Мясницкая, 20

[oelazebny@gmail.com](mailto:oelazebny@gmail.com)

Агрессивное поведение у человека характеризуется высоким уровнем полового диморфизма, когда мужчины проявляют большую агрессию в сравнении с женщинами практически во всех известных культурах. Считается, что основой такого диморфизма является повышенная импульсивность мужчин и страх перед физическим воздействием у женщин. Многие исследования продемонстрировали высокую наследуемость агрессивного поведения – более 50%. Агрессивное поведение (физическая и вербальная агрессия) и его негативная эмоциональная основа (гнев и враждебность) является продуктом сложных взаимодействий многих генов, связанных с метаболизмом стероидных гормонов и чувствительностью тканей к этим гормонам. Генами-кандидатами агрессивного поведения являются гены дофаминергической и серотонинергической систем, как рецепторы, так и нейротрансмиттеры, а также другие гены, например, ген андрогенового рецептора.

Наш коллектив, объединяющий различные учреждения Российской академии наук, занимается исследованием генетических основ агрессивного поведения человека уже более 10 лет. В отличие от других авторов, мы исследуем общества с традиционной культурой, например, охотников-собирателей хадза и скотоводов-кочевников датога, уклад жизни которых не менялся в течение многих столетий. Ранее нами исследовалась ассоциация ограниченного ряда генов-кандидатов с различными аспектами агрессивного поведения [1]. Целью настоящего исследования являлось применение высокопроизводительного метода для проведения тонкого генетического картирования агрессивного поведения. Была использована выборка европеоидов в количестве 50 человек для генотипирования 250 SNP-маркеров методом NGS-секвенирования на аппарате Ion PGM System (Thermo Fisher Scientific, США). С помощью ряда статистических алгоритмов (дисперсионный анализ, ридж и LASSO регрессия) был проведен ассоциативный анализ и выявлены гены, значимо влияющие на изменчивость признаков агрессии у человека.

[1]. Butovskaya M.L., Vasilyev V.A., Lazebny O.E., Suchodolskaya E.M., Shibalev D.V., Kulikov A.M., Karelin D.V., Burkova V.N., Mabulla A., Ryskov A.P. Aggression and polymorphisms in AR, DAT1, DRD2, and COMT genes in Datoga pastoralists of Tanzania. Scientific Reports. 2013. Nov 6; 3:3148. doi: 10.1038/srep03148.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ В КОМПЛЕКСЕ *DIACYCLOPS VERSUTUS* (MAZEPOVA, 1961), *D.* *IMPROCERUS* (MAZEPOVA, 1950) И *D. GALBINUS* (MAZEPOVA, 1961) (СОРЕРОДА) ИЗ ОЗ. БАЙКАЛ

Майор Т.Ю., Зайдыков И.Ю.

ФГБУН Лимнологический институт СО РАН, Россия, Иркутск, ул. Улан-Баторская, д. 3;  
[tatyanaabfo@mail.ru](mailto:tatyanaabfo@mail.ru)

Три вида циклопов, *D. galbinus*, *D. versutus*, *D. improcerus*, эндемичны для озера Байкал, широко распространены в литорали и имеют сходную морфологию [1]. Результаты молекулярно-генетического исследования филогении байкальских циклопов выявили несоответствие молекулярных и морфологических данных [2]. Среди представителей *D. versutus*, *D. improcerus*, *D. galbinus* показано наличие трех филогенетических групп с неясным таксономическим статусом. Для представителей одной филогенетической группы мы провели оценку морфологического и генетического полиморфизма.

Циклопов собирали в озере Байкал с глубин до 15 м в районе пос. Большое Голоустрое (52°02'с. ш. 105°24'в. д.), пос. Большие Коты (51°54' с. ш. 105°04' в. д.), пос. Листвянка (51°51'с. ш. 104°52'в. д.) и г. Слюдянка (51°40'с. ш. 103°42'в. д.) в апреле – июне 2018 гг. Для 66 самок циклопов, морфологически близких к *D. galbinus*, измеряли 27 морфологических признаков и получили значения 19 морфометрических параметров. В ходе молекулярного анализа получено 15 нуклеотидных последовательностей фрагмента гена первой субъединицы цитохромоксидазы (*COI*) мтДНК длиной 620 – 675 п.н. и 10 нуклеотидных последовательностей внутреннего транскрибируемого спейсера рДНК (*ITS1*) длиной 343 п.н. Значения четырех морфометрических параметров и одного морфологического признака достоверно отличаются у особей, собранных с разных мест. По результатам анализа главных компонент положительно коррелируют между собой два параметра, касающиеся 5 пары плавательных ног (WP5/LSpP5 - отношение ширины дистального членика и длины шипа на нем; LP5/WP5 - отношение длины и ширины дистального членика) и длина тела с параметром Ti/Tmi – отношение крайней внутренней терминальной щетинки и средней внутренней терминальной щетинки. Полученные данные по двум молекулярным маркерам согласуются друг с другом, все нуклеотидные последовательности формируют один кластер, с низкими значениями генетических расстояний, в среднем 0,005 и 0,003 по данным *COI* и *ITS1* соответственно. В то же время по гену *COI* генетические расстояния между нуклеотидными последовательностями, принадлежащими к разным филогенетическим группам в комплексе *D. versutus*, *D. improcerus*, *D. galbinus*, на два порядка выше и составляют в среднем 0,21. Согласно данным по *COI* особи, собранные около пос. Листвянки, пос. Больших Котов, и г. Слюдянки образуют панмиксную популяцию. В то время как нуклеотидные последовательности особей, собранных около пос. Большое Голоустрое, показывают некоторую генетическую обособленность.

[1]. Мазепова Г.Ф., Циклопы озера Байкал. // 1978, Труды Лимнологического института, Новосибирск: Наука, 139 с.

[2]. Майор Т.Ю., Молекулярно-филогенетический анализ представителей родов *Diacyclops* и *Acanthocyclops* (Сорерода: Cyclopoidea) из озера Байкал. // 2017, Генетика, Т. 53, № 2, С. 233-239.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ в рамках научного проекта АААА-А18-118032390006-1 № 18-34-00200 мол-а.

## GENETIC DIVERSITY OF *TRAPA L.* POPULATIONS IN RUSSIA AND EUROPE

Mikhaylova E.V.<sup>1</sup>, Artyukhin A.E.<sup>2</sup>, Kuluev B.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of biochemistry and genetics UFRC RAS, Russia, Ufa, 450054, Prospekt Oktyabrya, 71;

<sup>2</sup> Bashkir state university, Russia, Ufa, 450074, Zaki Validi street, 32

[mikhele@list.ru](mailto:mikhele@list.ru)

Water chestnut is a valuable aquatic plant. It is rare in Russia and can be found on the South of Western Siberia, Far East and European part. In 36 regions of Russia this plant is included in the Red List of Threatened Species. In USSR around 30 species of *Trapa* were distinguished on the basis of morphological characteristics [1], but now most of them are considered synonyms. The biodiversity of *Trapa* in Russia is, the most probably, presented by *Trapa natans* (*Trapa manshurica*/*Trapa sibirica*), *Trapa incisa* (*Trapa maximowiczii* Korsh.) and *Trapa japonica*, according to the Information and Analytical System "Protected areas of Russia".

15 species and 11 varieties in the genus *Trapa* were earlier described in China, while only two species are reported in the latest revision of the Flora of China. In most of the European countries it is considered there is only one polymorphic species, represented by two subspecies *T. natans* var. *natans* L. and *T. natans* var. *bispinosa* Roxb., with four and two horns, respectively [1]. Whereas in India and China water chestnut is a common food resource, in Europe it is at risk of extinction. So, it is important to study this plant to prevent the loss of its genetic and morphological diversity on the territory of Russia and Europe.

One of the most distanced and large population of *Trapa natans* in Europe is situated in Skadar lake (Montenegro). Genetic polymorphism in this population was never studied before. So, we examined leaf samples from Skadar lake and several regions of Russia: The Republic of Bashkortostan, Orenburg Oblast, Primorsky Krai [2] and Amur Oblast [3]. There were morphological differences between these samples. Even in two bays of Lebyazhe lake, situated near the city of Orenburg, the plants varied significantly. We used 10 RAPD and 10 ISSR primers and found no polymorphism between all the samples (putative *T. natans*, *T. pseudoincisa*, *T. manshurica*, *T. japonica*, *T. korshinskyi*), except those distinguished as *T. maximowiczii*, from both Primorsky Krai and Amur Oblast. So, in Europe and western part of Russia water chestnut the most likely is presented by only one species, and in Russian Far East – by two species. It's being additionally verified by sequencing.

[1]. Kuluev B.R., Artyukhin A.E., Shevchenko A.M., Mikhaylova E.V. Water chestnut *Trapa L.*: biology, habitat and the study of its isolated populations in the lakes of Nurimanovsky district in the Republic of Bashkortostan // 2017, Biomics, V.9(2), P. 101-118.

[2] Pshennikova L. M. A new species of the genus *Trapa* (*Trapaceae*) from the Far East of Russia // 2007, Botanicheskii Zhurnal, V. 92(1), P. 159-160.

[3] Bolotova Y. V. Distribution of Species of Genus *Trapa L.* (*Trapaceae*) in the Amur Region (Russian Far East) // 2014, Vestnik of North-Eastern Federal University, V. 11(2), P. 22-28.

The reported study was funded by Russian Science Foundation according to the research project № 18-74-00056)

## ХРОМОСОМНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПОПУЛЯЦИЯХ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ ЮГА ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ

Москаев А.В., Бега А.Г., Лопатин А.А.

Московский государственный областной университет, Россия, Мытищи, ул. Веры Волошиной, д.24;

[av.moskaev@mgou.ru](mailto:av.moskaev@mgou.ru)

Инверсионный полиморфизм в популяциях комаров коррелирует с ландшафтно-климатическими зонами [1]. Впервые был проведен цитогенетический анализ хромосомной изменчивости малярийных комаров комплекса видов-двойников *An. maculipennis* с полуострова Крым и Черноморского побережья Кавказа. Данные территории представлены суббореальным семигумидным лесостепным и низкогорным субтропическим субсредиземноморским ландшафтами. Для сравнения использовали комаров из равнинной бореальной подтаежной зоны (Тверская область). У полиморфного вида *An. messeae* s. l. определено наличие трех распространенных парацентрических инверсий:  $XL_1$ ;  $3R_1$ ;  $3L_1$ . В выборке из г. Новороссийск найдена новая уникальная гетерозиготная инверсия  $2R_5$  (11c-14a). Наибольшие межпопуляционные различия выявлены по структуре половой хромосомы. В популяциях комаров полуострова Крым выявлена повышенная частота инверсии  $XL_0$  ( $68,6 \pm 4,6\%$ ). В популяциях лесостепной зоны доля этой инверсии достигала  $36,0-39,9\%$ , в подтаежной зоне не превышала  $12,9 \pm 2,4\%$ . Значительные межпопуляционные различия наблюдали также по составу аутосом. Южные популяции характеризовались практически полной гомозиготностью по инверсии  $2R_0$ , в то время как в Тверской области доля хромосомного варианта  $2R_{00}$  не превышала  $35,7 \pm 4,4\%$ . На юге отмечена низкая частота гомо- и гетерозигот по инверсии  $3R_1$  (в Крыму найдены только гомозиготы  $3R_{00}$ ). В подтаежной зоне доля гомо- и гетерозигот по инверсии  $3R_1$  была значительно выше и достигала  $34,2\%$ . Установлено, что популяции с разным инверсионным составом приурочены к разным ландшафтно-климатическим зонам.

Так же нами были выявлены 3 новых инверсии у *An. maculipennis* s. s.:  $2R_{01}$  (9a-11c);  $2R_{02}$  (7c-9b);  $3R_{01}$  (23в-27с). Последняя инверсия была зарегистрирована как на полуострове Крым, так и на Черноморском побережье Кавказа с частотами  $3,8 \pm 3,8\%$  и  $10,2 \pm 2,6\%$  соответственно. Полученные в работе данные свидетельствуют о более широком распространении хромосомного полиморфизма у различных видов малярийных комаров, чем это считалось ранее.

[1]. Gordeev M.I., Moskaev A.V. Chromosomal Polymorphism in the Populations of Malaria Mosquito *Anopheles messeae* (Diptera, Culicidae) in the Volga region // Russian Journal of Genetics., 2016, vol. 52, no. 6, pp. 592–597.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 18- 04-01117 А.

## ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ ЯДЕРНОЙ ДНК НЕРКИ *ONCORHYNCHUS NERKA* (WALBAUM) НА АЗИАТСКОЙ ЧАСТИ АРЕАЛА

Пильганчук О.А.<sup>1</sup>, Шпигальская Н.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Камчатский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (Камчатский филиал ФГБНУ «ВНИРО») («КамчатНИРО»), Россия, Петропавловск-Камчатский, Набережная, 18.

[pilganchuk.o.a@kamniro.ru](mailto:pilganchuk.o.a@kamniro.ru)

Нерка *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) — один из видов тихоокеанских лососей, имеющих важное промысловое значение. Вид обладает сложной, многоуровневой популяционно-генетической структурой. На основе изменчивости частот аллелей микросателлитных локусов исследованы 48 выборок нерки, отобранных из 22 локальных стад азиатской части ареала. В ходе работы были апробированы 39 микросателлитных локусов. Популяции нерки из разных нерестовых бассейнов, в зависимости от поставленных задач, исследовали по различному количеству микросателлитных локусов, для некоторых нерестовых бассейнов их число достигало 19. Семь микросателлитных локусов (*Ots107*, *Ok1a*, *Ok1b*, *One104*, *One109*, *Ok1b*, *OtsG68*) использовали в качестве маркеров генетической изменчивости для всех изучаемых популяций. Для них выявлено 104 аллельных варианта, средняя ожидаемая гетерозиготность  $H_e$  составила 0.608, наблюдаемая  $H_o$  — 0.546. Показана значительная дифференциация исследованных выборок, по 7 микросателлитам ее среднее значение в величинах  $\theta_{st}$  составило 4.63% при положительном 95%-ном бутстреп-интервале. Проведенный анализ позволил определить крупные региональные комплексы популяций, приуроченные к Северо-Восточной Камчатке, Восточной Камчатке, северной части материкового побережья Охотского моря и Чукотке. Охарактеризована подразделенность крупных, важных в промышленном отношении популяционных систем нерки. Так, в бассейне реки Камчатка проведенные исследования позволили сделать заключение о существовании нескольких генетически обособленных структурных единиц — «оз. Азабачье» (ранняя и поздняя формы), «верхнее течение р. Камчатка», «среднее течение р. Камчатка». В бассейне р. Озерная подтверждена генетическая дифференциация ранней и поздней форм. В стаде р. Большая по исследованным маркерам выявлена неоднородность экологических (речная и озерная) и темпоральных (ранняя и поздняя) форм. В результате проведенного анализа определены наиболее генетически своеобразные популяции нерки на азиатской части ареала — р. Авача (Юго-Восточная Камчатка), оз. Красивое (о. Итуруп), р. Саранная (о. Беринга). Подтверждена возможность достаточно точной идентификации смешанных уловов нерки на уровне региональных популяционных комплексов, отдельных популяционных систем, а также темпоральных и экологических форм в их пределах.

## МИКРОЭВОЛЮЦИЯ ГОЛЬЦОВ РОДА *SALVELINUS*: МОДЕЛЬ МНОЖЕСТВЕННЫХ ВСЕЛЕНИЙ В ИЗОЛИРОВАННЫЕ ОЗЕРА СЕВЕРО-ВОСТОКА РОССИИ

Олейник А.Г.<sup>1</sup>, Скурихина Л.А.<sup>1</sup>, Кухлевский А.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН, Россия, Владивосток, 690041;

<sup>2</sup> Дальневосточный федеральный университет, Россия, Владивосток, 6906000  
[alla\\_oleinik@mail.ru](mailto:alla_oleinik@mail.ru)

Гольцы рода *Salvelinus* – лососевые рыбы, демонстрирующие высокое фенотипическое разнообразие, полиморфизм и способность адаптироваться к различным местам обитания. В настоящее время, очевидно, что наблюдаемый фенотипический полиморфизм у гольцов имеет генетическую основу, а симпатричные популяции могут иметь разное происхождение даже на небольших участках ареала.

На основе анализа нуклеотидных последовательностей контролирующего региона (*CR*), генов цитохрома *b* (*Cyt b*) и цитохромоксидазы-1 (*CoI*) митохондриальной ДНК оценены родственные связи эндемичных гольцов, представленных уникальными озерными популяциями. Тестировались гипотезы о принадлежности озерных гольцов к: (1) Арктической филогруппе гольца Таранца *S. taranetzi*; (2) Берингийской - северной мальмы *S. m. malma*; (3) Евразийской - арктического гольца *S. alpinus*. Монофилетическая группа (*S. taranetzi*, *S. krogiusae*, *Salvelinus* sp. 4) дивергировала от общего предка раньше разделения *S. m. malma* и *S. alpinus*. Поэтому ни один из гаплотипов мтДНК *S. taranetzi*, *Salvelinus* sp. 4, *S. krogiusae* нельзя считать производным от гаплотипов симпатричной *S. m. malma* или аллопатричного *S. alpinus*. Уровень дивергенции между филогруппами значительно превосходит диапазон внутривидовой изменчивости *S. m. malma* и не мог быть достигнут после колонизации озер в условиях симпатрии. Результаты анализа с определенностью указывают, что бимодальные зоны симпатрии в озерах Аччен, Пекульнейское, Начикинское и Дальнее возникли в результате множественных вселений. Таким образом, документирована современная контактная зона между Берингийской и Арктической филогенетическими линиями гольцов в Северо-Западной Пацифике.

Нам удалось решить проблему взаимоотношений *S. taranetzi* (с близкородственными таксонами) из Азии и *S. a. erythrinus* Северной Америки, доказав их филогенетическую близость. Наблюдаемое генетическое сходство, вероятно, связано с послеледниковой колонизацией из общих источников, а не с потоком генов в современных популяциях. Предполагая общее происхождение *S. taranetzi* и *S. a. erythrinus*, мы показали существование между ними определенного уровня дивергенции, вследствие вероятной фрагментации ареала общего предка и последующей эволюции в условиях изоляции расстоянием. Имеющиеся данные свидетельствуют, что реколонизация озер Камчатки Арктической группой гольцов осуществлялась из двух ледниковых рефугиумов.

Данная работа была выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №15-04-01000).

## УГОРСКИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СУБСТРАТ В ГЕНОФОНДЕ КОРЕННОГО НАСЕЛЕНИЯ ЮЖНОЙ И ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Хитринская И.Ю., Харьков В.Н., Новикова Л.М., Зарубин А.А., Степанов В.А.

*Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Российская Федерация, Томск, 634050, ул. Набережная реки Ушайки, д.10*

*[i.khitrinskaya@medgenetics.ru](mailto:i.khitrinskaya@medgenetics.ru)*

Изучение структуры генофонда современных популяций человека позволяет детально раскрыть ряд вопросов, связанных с их этногенезом. Проблематика, касающаяся анализа состава и соотношения различных субстратных компонент у сибирских народов, несмотря на высокий уровень изученности, имеет ряд невыясненных вопросов. Генетика в этой связи дает богатейшие возможности для исследования проблем, поскольку развитие современных методов анализа популяционного генофонда позволило вывести этногенетические исследования на совершенно новый уровень. Современные методы, применяемые в молекулярно-генетических исследованиях, и новые биоинформационные подходы позволяют достоверно выявлять различные предковые генетические компоненты в составе генофонда различных народов и отдельных людей.

Мы использовали данные генотипов по 1677114 аутосомным SNP (биочип Illumina Multi-Ethnic Global-8) 917 образцов и данные генотипирования более 3000 Y-хромосомных SNP и 36 YSTR у более 1600 образцов мужчин, представляющих коренное население Сибири и соседних регионов. Охарактеризовано более 30 популяционных выборок. Для выявления компонентов и количества примесей у отдельных индивидов и популяций была использована методика NGS-admix и программа ADMIXTURE, а также проведен сравнительный анализ данных аутосомных SNP и гаплогрупп и гаплотипов Y-хромосомы.

При анализе данных аутосомных генотипов в качестве группы сравнения с наибольшей долей угорского компонента были использованы две различные выборки этнических хантов из Сургутского и Белоярского районов ХМАО. Показано, что, несмотря на различия в составе и частотах гаплогрупп Y-хромосомы, ханты характеризуются доминированием собственного единого генетического компонента (угорского), который и является их генетической основой (до 95-100% на уровне отдельных индивидов). Значительна доля этого компонента также у манси, селькупов и кетов (при анализе до 8 компонент). Существенную долю этот компонент занимает и в генофонде популяций Волго-Уральского региона – башкир (до 25%), марийцев (до 20%), коми, удмуртов и чувашей (до 15%). С меньшей частотой он представлен практически во всех популяционных выборках Алтай-Саян – тувинцев, алтайцев, хакасов (от 5 до 10%).

Частота распределения угорского компонента достоверно коррелирует с частотой различных гаплогрупп клады N Y-хромосомы, в частности N1c1a1a2b-L1034 и N2a1-B170. Филогенетический анализ Y-хромосомных сублиний и гаплотипов показывает, что центром происхождения и расселения носителей угорского компонента в Южной, Западной Сибири и Восточной Европе предположительно является территория современного Алтая и Саян. Полученные результаты хорошо согласуются с данными этнологии, антропологии и лингвистики о вкладе уральского компонента в формирование различных народов Алтай-Саян и историческими ареалами угорских и других языков уральской языковой семьи.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-29-13045-мк.

## ВНУТРИВИДОВАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ *OXYTROPIS RUTHENICA* VASS. – ЭНДЕМИКА ПРИМОРСКОГО КРАЯ

Холина А.Б.<sup>1</sup>, Козыренко М.М.<sup>1</sup>, Артюкова Е.В.<sup>1</sup>, Колдаева М.Н.<sup>2</sup>, Якубов В.В.<sup>1</sup>,  
Прокопенко С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии  
Дальневосточного отделения Российской академии наук, Россия, Владивосток, пр. 100-  
летия Владивостока, 159, 690022; <sup>2</sup>Ботанический сад-институт Дальневосточного  
отделения Российской академии наук, Россия, Владивосток, ул. Маковского, 142, 690024  
[kholina@biosoil.ru](mailto:kholina@biosoil.ru)

До сих пор существуют противоречивые мнения о таксономическом ранге *Oxytropis ruthenica*. Павлова [1] признает его видовую самостоятельность, а Малышев [2] на основе сходства морфологических признаков предложил считать его подвидом *O. litoralis*. Однако есть определенные сомнения в правильности такого решения, так как ареалы *O. ruthenica* и *O. litoralis* географически значительно разобщены – Приморье и Северо-Восточная Камчатка соответственно, и промежуточных форм не обнаружено. Кроме этого, таксономический статус *O. litoralis* также обсуждается: Якубов и Чернягина [3] рассматривают *O. litoralis* и *O. erecta* как подвиды *O. ochotensis*, а Павлова [1] и Малышев [2] – как три самостоятельных вида. Для уточнения таксономических рангов *O. litoralis*, *O. erecta*, *O. ochotensis* и *O. ruthenica* и оценки генетического разнообразия последнего мы использовали молекулярные маркеры хлоропластного генома. Сравнительный анализ нуклеотидного полиморфизма межгенных спейсеров *psbA-trnH*, *trnL-trnF* и *trnS-trnG* 66 растений из пяти природных популяций *O. ruthenica* показал, что вид в целом характеризуется высоким уровнем гаплотипического и относительно низким уровнем нуклеотидного разнообразия ( $h = 0.860$ ,  $\pi = 0.0037$ ), а также высоким уровнем популяционной дифференциации ( $\Phi_{ST} = 0.82967$ ,  $P < 0.0001$ ). Выявлено 18 гаплотипов, из которых только два были общими для двух популяций. Дивергенция нуклеотидных последовательностей между популяциями *O. ruthenica* изменяется в пределах от 0.263 до 2.923, наибольшая – между популяцией с о-ва Русский и всеми другими. Реконструкция филогенетических связей *O. ruthenica* с близкородственными видами показала четкое разделение на четыре филетические линии: *O. ochotensis*; *O. litoralis* и *O. erecta*; *O. ruthenica* с о. Русский; другие популяции *O. ruthenica*. Сиквенсы гаплотипов *O. litoralis* и *O. erecta* практически идентичны и отличаются лишь количеством повторов в моно- и динуклеотидных мотивах, что указывает на единство генофонда и, возможно, их следует рассматривать как синонимы.

[1]. Павлова Н.С., Бобовые – Fabaceae. // 1989, Сосудистые растения советского Дальнего Востока, Т.4, С.191-339.

[2]. Малышев Л.И., Род *Oxytropis* DC. // 2012, Конспект флоры Азиатской России: Сосудистые растения, С.237-248.

[3]. Якубов В.В., Чернягина О.А., 2004, Каталог флоры Камчатки (сосудистые растения). Петропавловск-Камчатский: Камчатпресс, С.96.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке программы Президиума РАН "Дальний Восток" (проект № 18-4-011).

## ДВЕ МОДЕЛИ ФОРМИРОВАНИЯ БАШКИРСКОГО ГЕНОФОНДА

Юсупов Ю.М.<sup>1</sup>, Балановская Е.В.<sup>2,3</sup>, Бычковская Л.С.<sup>2</sup>, Короткова Н.А.<sup>3,2</sup>,  
Балановский О.П.<sup>4,3,2</sup>

<sup>1</sup> *Институт стратегических исследований Республики Башкортостан, Россия, Уфа, 450008*

<sup>2</sup> *Медико-генетический научный центр, Россия, Москва, 115478;*

<sup>3</sup> *Биобанк Северной Евразии, Россия, Москва, 115201*

<sup>4</sup> *Институт общей генетики РАН, Россия, Москва, 119991*

*ufa1980@yandex.ru*

Башкиры имеют сложную популяционную структуру, которая складывалась под влиянием ряда географических и геополитических факторов. Вопрос о том, какие генетические следы оставили эти факторы в генофонде башкир, требует междисциплинарного подхода. Сохранение памяти о родовой (клановой) структуре позволяет проводить детальную реконструкцию генетической истории башкир.

Использованы собственные данные о полиморфизме Y-хромосомы трех основных этнотерриториальных групп башкир (N=838), а также привлечены материалы базы данных «Y-base», разработанной под руководством О.П. Балановского.

Все образцы генотипированы по единой панели 64 SNP-маркеров (M130, M217, M48, M174, M96, M35, M78, M123, M201, M285, P15, P18, M406, P303, M170, M253, P215, P37, M223, M304, M267, P58, M172, M47, M67, M92, M12, M317, M20, M214, LLY22g, M128, P43, M178, L708, B211, M2118, VL29, Z1936, F4205, B202, B479, M122, M242, M134, P31, M119, M242, M207, M198, M458, M343, P297, M73, M269, L23, L51, GG401, GG402, GG403, GG404, GG405, M124, M70) методом ПЦР в реальном времени на приборах StepOnePlus и 7900HT (Applied Biosystems) с использованием технологии Taqman (Applied Biosystems).

При комплексном анализе башкирского генофонда выявлены две модели его формирования.

«Северная модель» фиксирует существование некоего протоклана, разросшегося, скорее всего, в период средневековья. Его дочерние ветви образовывали самостоятельные кланы и даже клановые конфедерации (сложные вождества). Ключевой стала гаплогруппа R1a-M198, с высокой частотой обнаруженная у северных (более 80%) и северо-восточных (более 60%) популяций башкир, а также, хотя и реже, у северо-западных башкир.

«Южная модель» фиксирует противоположную ситуацию: на юге Башкирии не выявлены генетические линии, присутствующие у большинства родовых объединений, то есть каждое клановое объединение имеет специфичный генетический портрет. Это означает, что исторический процесс разрастания клана приводил не к вычленению новых дочерних кланов как это было на севере, а к усложнению внутренней структуры клана за счет демографического роста и ассимиляции соседей.

Таким образом, влияние внешних, преимущественно социально-политических, факторов привело к сложению двух столь различных моделей формирования башкирского генофонда: «северной» и «южной», реконструкция которых возможна благодаря использованию информации о родовой (клановой) структуре.

**Благодарности:** работа выполнена при поддержке РФФИ 17-06-00472, Госзадания ФАНО России.

## АНАЛИЗ VNTR–ПОВТОРОВ В ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА (AVPR1A) В ЯКУТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Находкин С.С.<sup>1</sup>, Барашков Н.А.<sup>1,2</sup>, Пшенникова В.Г.<sup>1,2</sup>, Казанцева А.В.<sup>3</sup>,  
Хуснутдинова Э.К.<sup>3,4</sup>, Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Россия, г. Якутск, ул. Кулаковского, 46;

<sup>2</sup> Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Россия, г. Якутск, Сергеляхское шоссе, 4;

<sup>3</sup> Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, г. Уфа, проспект Октября, д. 71;

<sup>4</sup> Башкирский государственный университет, Россия, г. Уфа, ул. Заки Валиди, д. 32.  
[sergnahod@mail.ru](mailto:sergnahod@mail.ru)

Аргинин-вазопрессин (AVP) – нейропептид, оказывающий большое влияние на организм, AVP обеспечивает адаптацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы к стрессу, участвует в регуляции автономных функций, циркадной ритмичности, социального поведения, обучения, памяти и эмоциональной сферы [1]. В настоящей работе проведен сравнительный анализ распределения частот аллелей и AVPR1A-генотипов у 335 здоровых индивидов из Республики Саха (Якутия) в возрасте 18–26 лет. Общая выборка якутов была разделена по половой принадлежности для проведения стратификационного анализа и состояла из 118 мужчин, 217 женщин. Этническая принадлежность по отцовским и материнским линиям учитывалась до 3 поколений. Анализ VNTR–повторов в полиморфном локусе *RS1* гена *AVPR1A* проводился при помощи метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Предварительно, было осуществлено определение VNTR-повторов на капиллярном секвенаторе «ABI Prism» в 7 образцах ДНК, которые в последующем были использованы в качестве контроля при электрофоретическом разделении продуктов ПЦР в полиакриламидном геле. В результате в общей выборке якутов выявлены 8 из 9 различных аллелей, содержащих от 8 до 15 GATA-повторов (R8, R9, R10, R11, R12, R13, R14, R15). Гомозиготы по аллелям R8, R15, R16 в выборке отсутствовали. Мажорными для популяции якутов были аллели с количеством GATA-повторов 10 (45,4%) и 11 (21,6%). В большинстве популяций мира представлены аллели с числом GATA-повторов от 8 до 16, а также с преобладанием аллеля R10 (41%) [2]. В целом, для популяции якутов характерен выраженный дефицит гетерозигот и невысокий уровень фактической гетерозиготности, что можно объяснить особенностями генетической истории якутов (малочисленность предковой популяции с последующей значительной экспансией численности, длительное развитие в условиях относительной изолированности, выраженный эффект основателя по отцовской линии).

[1]. Ермакова И.В. Современные представления о механизмах регуляции функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой система. // 2014, Новые исследования. С.77-86.

[2]. Morley A.P., Narayanan M., Mines R., [et al.], AVPR1A and SLC6A4 Polymorphisms in Choral Singers and Non-Musicians: A Gene Association Study. // 2012, PLoS One. V. 7(2): e31763. doi:10.1371/journal.pone.0031763

**Благодарности:** Данная работа была выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ №6.1766.2017 ПЧ и при поддержке гранта РФФИ (18-05-600035\_Арктика).

## АНАЛИЗ РОЛИ УЧАСТКА НА ХРОМОСОМЕ 10 ЛИСИЦЫ (VULPES VULPES) В КОНТРОЛЕ РАЗМЕРОВ ЧЕРЕПА.

Харламова А.В.<sup>1</sup>, Владимирова А.В.<sup>1</sup>, Кукекова А.В.<sup>2</sup>, Трут Л.Н.<sup>1</sup>, Ефимов В.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Россия, Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10; <sup>2</sup> Университет штата Иллинойс, США, Урбана-Шампейн, <sup>3</sup>Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, Пирогова, 1; <sup>4</sup>Томский государственный университет, Россия, пр. Ленина, 36.

[kharlam@bionet.nsc.ru](mailto:kharlam@bionet.nsc.ru)

Работа выполнена на лисицах из экспериментальных субпопуляций ИЦиГ СО РАН, прошедших длительный отбор по социальным реакциям на человека. Ранее был проведен совместный анализ морфологических и генетических признаков методом 2B-PLS выборки потомков возвратного скрещивания гибридов первого поколения (F1 между доместичированными и агрессивными особями) на представителей доместичированной популяции. На основе анализа 350 SSR маркеров был выявлен локус на хромосоме 10, вовлеченный в контроль размеров черепа. Три микросателлитных маркера (RVC1, REN193M22, FH2535), локализованных на участке протяженностью менее 10 сМ, показали статистически значимую связь с размерной осью [1]. Данный участок хромосомы лисицы синтенен участку 15-ой хромосомы собаки, в котором локализован ген *IGF1*, два из гаплотипов которого объясняют 15% варибельности размеров тела собак [2], что делает его хорошим кандидатом для участия в регуляции размеров тела. В настоящей работе ставили цель верифицировать значимость данного локуса для лисиц. Она проведена на выборке по 25 самцов и 25 самок из субпопуляций ручных, агрессивных и неселекционированных лисиц (всего 150 особей), что составляет 5% от общей численности экспериментальной популяции лисиц ИЦиГ СО РАН. Было проведено генотипирование по трем указанным выше маркерам, а также измерение краниологических признаков у этих лисиц. Информация проанализирована в пакете программ PAST - вычислены бикомпоненты (линейные комбинации для генетической и морфологической изменчивости). Была выявлена статистически значимая корреляция между морфологической и генетической бикомпонентами, описывающими размер лисиц ( $R=0,24$ ;  $P=0,009$ ), что подтверждает участие данного локуса на хромосоме 10 в контроле размеров черепа лисиц. Поскольку размер черепа тесно коррелирует с общими размерами тела, полученные в работе результаты дают дополнительную информацию о роли гена *IGF1* в контроле размеров тела животных.

[1] Харламова А.В., Владимирова А.В., и др. Предполагаемые локусы, вовлеченные в вариацию размеров черепа лисицы. // 2016, Териофауна России и сопредельных территорий. Материалы международного совещания, 1-5 февраля 2016, Москва, с. 441.

[2] Boyko A.R., Quignon P., Li L., et al. A Simple Genetic Architecture Underlies Morphological Variation in Dogs. // 2010, PLoS Biol., V.8(8), e1000451.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-07-00658-а и бюджетного проекта №0324-2019-0041.

## ВЛИЯНИЕ ВЫРУБКИ ЛЕСА НА ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ *FRAGARIA VESCA* L.

Бабынин Э.В., Дубровная С.А. Хамидуллин И.И.

Институт фундаментальной медицины (ИФМиБ) Казанского (Приволжского)  
Федерального университета, Россия, Казань.

[edward.b67@mail.ru](mailto:edward.b67@mail.ru)

Генетическое разнообразие имеет важное значение для устойчивости природных популяций различных видов организмов. Одним из ведущих факторов, влияющих на этот показатель, является антропогенное воздействие. Проведенные нами исследования показали, что в ценопопуляциях земляники лесной (*Fragaria vesca* L.) на деструктивных участках возрастает интенсивность вегетативного размножения и расселения, что может вызывать снижение генетического полиморфизма. Целью данного исследования явилось выявление генетического разнообразия природных ценопопуляций земляники лесной в условиях нарушенных (вырубка) местообитаний и климаксовых сообществ.

Сбор материала проводили в Республике Мари Эл на территории Государственного природного заповедника «Большая Кокшага» в 2018 г. Во всех местообитаниях через каждые 10 м. случайным образом отбирались растения виргинильного онтогенетического состояния. Анализ генетического полиморфизма проводили методом случайно амплифицируемой полиморфной ДНК (RAPD-анализ). Для оценки геномного полиморфизма были отобраны 5 праймеров OPG11, OPB08, OPA20, OPA17, OPA15. Компьютерный анализ молекулярно-генетического полиморфизма ДНК проведен с помощью программы POPGENE1.31. UPGMA-дендрограммы, отражающие степень родства исследуемых растений, построены с помощью пакета программ NTSYSpc, Version 2.2.

Значения сходства, полученные в анализах матриц подобия RAPD-маркеров, подтвердили, что существует различие между генетическим полиморфизмом среди популяций с разной интенсивностью полового процесса и вегетативного расселения. Генетическое разнообразие было выше в условиях климаксовых сообществ, чем на территории вырубки. Индекс Шеннона составил, соответственно  $I = 0,41$  и  $0,35$ . Дендрограммы, построенные по результатам RAPD-анализа, показали, что растения вырубки образуют кластеры с некоторыми растениями леса, в то время как растения из леса образуют также самостоятельные кластеры. Это свидетельствует о том, что на вырубке теряется часть генетического разнообразия, имеющегося в лесу.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке РФФИ и Правительства Республики Татарстан в рамках научного проекта № 18-41-160011.

## АВТОМАТИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ВЫВОДА СОВМЕСТНОЙ ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ ИСТОРИИ НЕСКОЛЬКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ИЗ АЛЛЕЛЬ-ЧАСТОТНОГО СПЕКТРА

Носкова Е.Э.<sup>1</sup>, Ульянов В.И.<sup>1</sup>, Кофли К.<sup>2,3</sup>, О'Брайен С.Д.<sup>2,4</sup>, Добрынин П.В.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Университет ИТМО, Россия, Санкт-Петербург, 197101, Кронверкский проспект, д.49;

<sup>2</sup>Центр геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского, Россия, Санкт-Петербург, 199004, Средний проспект В.О., 41;

<sup>3</sup>Смитсоновский институт, США, Вашингтон, 20008, Коннектикут авеню, 3001;

<sup>4</sup>Океанографический центр Нова Соусистерн Университета, Форт-Лодердейл, США, 33314, Колледж авеню, 3301;

[ekaterina.e.noskova@gmail.com](mailto:ekaterina.e.noskova@gmail.com)

Понимание роли демографии и отбора в формировании видов и популяций является центральной проблемой популяционной генетики. За последнее время, благодаря развитию технологий секвенирования, происходит накопление данных по геномам особей близких видов, что может помочь пролить свет на решение данной проблемы. Демографическая история или демографическая модель популяций — это история развития этих популяций, которая включает в себя такие события как миграция, разделение популяций и изменения (эффективной) численности.

Аллель-частотный спектр — совместное распределение частот полученных аллелей в популяциях, является одним из наиболее распространенных и удобных представлений генетической информации. В последнее время было посвящено много работ анализу аллель-частотного спектра и его зависимости от истории развития популяций, что привело к появлению различных методов симуляции ожидаемого аллель-частотного спектра из предложенной демографической модели. Примерами реализации таких методов являются *dad1* [1] и *moments* [2]. Кроме симуляции АЧС данные программные регения предлагают поиск параметров предложенной пользователем модели, дающих наибольшее значение правдоподобия, с помощью различных алгоритмов локального поиска. Однако такие алгоритмы имеют ряд ограничений и оказываются неэффективны на практике. Более того на данный момент не существует программного обеспечения, которое строило бы демографическую модель из данных автоматически.

Нами был разработан метод поиска демографической модели, оптимально соответствующей наблюдаемому аллель-частотному спектру, основанный на генетическом алгоритме с использованием существующих решений для симулирования аллель-частотного спектра из заданной демографической модели, а именно *dad1* и *moments*. Предложенный метод поддерживает до 3х популяций и был реализован в программном обеспечении GADMA. Эффективность метода была проверена на реальных данных: на геномах современных людей, бабочек *Euphydryas gillettii* и лягушек *Scotobleps gabonicus*. GADMA является первым эффективным программным обеспечением, которое подбирает демографическую модель из аллель-частотного спектра, не требуя от пользователя ничего, кроме единственной информации — структуры, которая определяет то, насколько подробная модель требуется.

[1]. Gutenkunst, R. N., Hernandez, R. D., Williamson, S. H., and Bustamante, C. D. 2009. Inferring the Joint Demographic History of Multiple Populations from Multidimensional SNP Frequency Data. *PLoS genetics*, 5(10): e1000695.

[2]. Jouganous, J., Long, W., Ragsdale, A. P., and Gravel, S. 2017. Inferring the joint demographic history of multiple populations: Beyond the diffusion approximation. *Genetics*, 206(3): 1549–1567.

## РЕКОНСТРУКЦИЯ ГЕНОФОНДА УБЫХОВ ЗАПАДНОГО КАВКАЗА ПО ДАННЫМ О ПОЛИМОРФИЗМЕ Y-ХРОМОСОМЫ

Кагазежева Ж.А.<sup>1,2,3</sup>, Схалыхо Р.А.<sup>1</sup>, Почешхова Э.А.<sup>3</sup>, Балановская Е.В.<sup>1,4</sup>,  
Балановский О.П.<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup>Медико-генетический научный центр, Россия, Москва, 115478;

<sup>2</sup>Институт общей генетики РАН, Россия, Москва, 119991

<sup>3</sup>Кубанский государственный медицинский университет, Краснодар, 350063

<sup>4</sup>Биобанк Северной Евразии, Россия, Москва, 115201

[janetka0001@bk.ru](mailto:janetka0001@bk.ru)

Убыхи – автохтонный народ Западного Кавказа, который ныне в России считается исчезнувшим, а данные об их этногенезе скудны. До Кавказской войны (1854 г.) ареал этого многочисленного народа охватывал район современного Сочи и его окрестностей: на юго-востоке граничил с абхазскими племенами, на северо-западе – с шапсугами, на севере их земли от абадзехов отделял Кавказский хребет. Незначительная часть уцелевших после Кавказской войны убыхов мигрировала в Турцию, где на данный момент около 10 тысяч их потомков живут отдельными убыхскими селениями или совместно с черкесами.

Убыхи являются ключевым звеном для понимания взаимоотношений между народами, говорящими на языках абхазской и адыгской лингвистических ветвей. Немалый интерес вызывает предположение, что убыхи могли быть в числе потомков алан, поскольку в их составе было племя с таким названием.

Нами впервые изучен генофонд убыхов и создан их генетический портрет по современной панели маркеров Y-хромосомы, поскольку в условиях длительной ассимиляции именно эта система позволяет наиболее надежно реконструировать генофонд. Генотипирование проведено по «основной» панели маркеров (48 SNP маркеров) и «специальной» панели, включающей новые субветви гаплогруппы G2a, выявленные при полногеномном анализе Y-хромосомы (11 SNP маркеров). В анализ включены 38 мужчин из турецкой диаспоры убыхов.

Весь генофонд убыхов описывается двумя мажорными гаплогруппами – G2a и R1a. «Переднеазиатская» гаплогруппа G2a составляет больше половины всего генофонда убыхов. Наиболее частой оказалась ветвь G2a-P303, а внутри нее субветвь – G2a-P303-8903699, преобладание которой в генофонде убыхов приближает их к генофонду адыгейцев (шапсугов и темиргоевцев). Другая ветвь – G2a-P16, характерная для осетин, – составила четверть генофонда убыхов.

Матрица генетических расстояний и их картографирование демонстрируют, что в генетическом плане убыхи наиболее близки к популяциям адыгов (в особенности – к прикубанским шапсугам) и далеки от абхазов (генетическое расстояние до них на порядок больше, чем от адыгов). На графике многомерного шкалирования визуализируются два крупных кластера: отдельный генетический кластер образовали убыхи и популяции адыгейцев, в другой кластер объединились географически близкие абхазо-адыгские народы: кабардинцы, черкесы и абазины. Абхазы заняли промежуточное положение в генетическом пространстве между этими двумя кластерами.

**Благодарности:** исследования выполнены в рамках гранта РФФИ №16-06-00364 и госзадания ФАНО России.

## ПРИРОДНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ И БИОГЕОГРАФИЯ СИБИРСКОГО ОСЕТРА *ACIPENSER BAERII* BRANDT.

Барминцева А.Е.<sup>1</sup>, Мюге Н.С.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва 107140;

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской Академии Наук, Москва 119334

Сибирский осетр *A. baerii* Brandt, 1869 является потамодромным видом, широко распространенным во всех крупных реках Сибири от Оби до Колымы, а также в оз. Байкал.

Описан этот вид Брандтом из рек Обь и Лена, позднее Никольским описан отдельный вид - узкорылый осетр *A. stenorhynchus* из реки Енисей и его байкальская форма *A. stenorhynchus* var. *baikalensis*. В последующие годы проводились многочисленные ревизии, в результате в настоящее время принято деление сибирского осетра на три подвида – *A. b. baerii* (Обь-Иртышский бассейн), *A. b. stenorhynchus* (реки Енисей, Лена, и реки к востоку от Лены до р. Колымы и Индигирка) и *A. b. baikalensis* (оз. Байкал и впадающие в него реки Селенга и верхняя Ангара). Дальнейшее изучение сибирского осетра показало значительную внутривидовую морфологическую изменчивость при отсутствии выраженных отличий между осетрами Оби, Енисея и Лены, что послужило основанием распространенного мнения о необоснованности выделения подвидов.

Целью настоящей работы является анализ природного генетического полиморфизма мт и ядерной ДНК сибирского осетра на основании материала, собранного по всему его ареалу.

Была исследована 151 особь из пяти природных популяций сибирского осетра - бассейнов рек Обь и р. Иртыш, Енисей, Лена, Колыма и озера Байкал. Сборы материала были проведены в течение 2004-2015 гг.

Нами исследованы последовательности контрольного региона мтДНК длиной 685 п.н. Выявлено 50 различных мт гаплотипов, из которых 7 являются общими для разных популяций (двух-четырех), остальные представлены только в одной.

Исследование генетической структуры сибирского осетра с применением микросателлитных маркеров указывает на отсутствие мажорных диагностических аллелей, специфичных для какой-либо из природных популяций. В тоже время результаты assignment test (Structure), указывают, что популяции имеют значимую дифференциацию между собой, хотя распределение выборок по группам не соответствует принятому делению этого вида на оз. Байкал и бассейны сибирских рек – Обь-Иртышский бассейн, Енисей, Лена и Колыма.

Исследование мтДНК показало, что Байкальская популяция сибирского осетра, единственная из всех, несет полный набор предковых мт гаплотипов и, следовательно, с большой вероятностью, является наиболее старой из всех природных популяций. Можно предположить, что в один из периодов максимума оледенения Байкал являлся рефугиумом для сибирского осетра, который потом вновь распространился в основные сибирские реки через крупные послеледниковые озера, возникавшие за счет подпруживания ледниковым щитом текущих на север сибирских рек.

В результате проведенного исследования показано, что сибирский осетр представлен генетически хорошо различающимися группировками, соответствующими гидрографическим бассейнам – Обь-Иртышская, Байкало-Енисейская, Ленская и Колымская популяции.

## GENETIC VARIABILITY OF BROWN TROUT (*SALMO TRUTTA*) STUDIED BY APPLYING MICROSATELLITE ANALYSIS

Nabeshina N.A.

Azov-Black Sea Branch of FSBI "VNIRO" ("AzNIIRKH»),  
Russia, Rostov-on-Don, Beregovaya Street 21 B.

[nabeshina\\_n\\_a@azniirkh.ru](mailto:nabeshina_n_a@azniirkh.ru)

Throughout its habitat, the brown trout show significant genetic differentiation among the populations caused by such factors as biological specificities of the fish and isolated spawning grounds in the rivers. The inter-population divergence in the Black Sea trout has been revealed by biochemical markers long enough, and further supported by mtDNA sequence data. However, a detailed subpopulation structure of the Black Sea brown trout has not been defined with the help of the microsatellite analysis. Moreover, recent decades of intense anthropogenic pressure have brought about changes in the status of the species, in particular, of that one that lives in the eastern Black Sea.

The aim of the research is to analyze the genetic variability of the resident form of the Black Sea brown trout by using STR markers.

We analyzed 415 individuals of *S. trutta*, sampled in 12 rivers, by eight STR-loci. Having analyzed the variability of microsatellite loci, we identified 134 alleles, of which 36 alleles were at the ssa408 locus. The lowest genetic diversity in the populations studied was typical of the Str85, Str6 and Str15 loci with averaged effective number of alleles per locus (within 2.7-4.7). In the samples from the rivers Lashipse, Teberda and M. Laba, the Str85 locus appeared to be monomorphic with the allelic variant 149 bp. In 10 of 12 brown trout populations studied, there were identified twenty-seven private alleles with the highest number of 11 and 8 alleles at the respective SSA408 and SSA197 loci. At the same time, the largest number (seven) of private alleles was found in the brown trout population of the Kodor river.

The frequency of occurrence of all these private alleles was rather low and ranged over 0.8% - 5.6%, with the exception of the following five allelic variants: at the SSA408 loci in the river Lashipse – 233 bp (11.1%) and in the river M. Laba – 286 bp (11.1 per cent); at the SSA197 loci in the river Teberda – 140 bp (13.9 %) and in the river Mchishta – 154 bp (10 %); at the Str15 loci in the river Lashipse – 216 bp (11.1% ). They can be considered as species-specific for the populations in question. The analysis of molecular variance (AMOVA) has shown that 14% of genetic variability of the Black Sea brown trout account for the inter-population variability and 86 % for the intra-population component.

The observed heterozygosity was in the range from 0.521 (the Lashipse) to 0.693 (the Kodor), while the expected heterozygosity ranged from 0.489 (Lashipse) to 0.737 (the Shakhe). The insignificant values of  $F_{st}$  and Nei's genetic distances observed in the samples from the rivers Ashe, Psezuapse, Shakhe, Mzymta, Yupshara, Mchishta and Kodor can be explained by the existing gene exchange due to the migratory form of the species and artificial stocking of these rivers.

Thus, the studied populations of the Black Sea brown trout are characterized by a moderate degree of genetic subdivision in the marginal populations and by a much greater one in the isolated populations.

## Симпозиум XIX: Генетика поведения, старения и нейрогенетика / Symposium XIX: Genetics of Ageing, Behavior and Neurogenetics

### ПОИСК НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ, СВЯЗАННЫХ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА, НА ОСНОВЕ РЕПЛИКАЦИИ ДАННЫХ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ИНДИВИДУУМОВ С ВЫСОКИМИ И НИЗКИМИ КОГНИТИВНЫМИ СПОСОБНОСТЯМИ

Бочарова А.В.<sup>1</sup>, Вагайцева К.В.<sup>1</sup>, Марусин А.В.<sup>1</sup>, Макеева О.А.<sup>1,2</sup>, Маркова В.В.<sup>2</sup>,  
Минайчева Л.И.<sup>1,2</sup>, Жукова И.А.<sup>2,3</sup>, Жукова Н.Г.<sup>2,3</sup>, Матвеева М.В.<sup>3</sup>, Степанов В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Россия, Томск, <sup>2</sup>Центр клинических исследований «Неббиоло», Россия, Томск; <sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, Томск  
[anna.bocharova@medgenetics.ru](mailto:anna.bocharova@medgenetics.ru)

Известно, что болезнь Альцгеймера (БА) является прогрессирующим неврологическим заболеванием, характеризующимся медленной прогрессирующей потерей памяти из-за постепенной гибели клеток мозга. В связи с тем, что структура популяции последние годы меняется в сторону увеличения численности возрастных индивидуумов, БА сейчас рассматривается как одна из самых серьезных проблем здравоохранения во всем мире. Болезнь Альцгеймера с поздним началом (возраст начала заболевания после 65 лет) имеет сильную генетическую компоненту, часть из которой объясняется геном аполипопротеина (APOE) и несколькими другими генами, обнаруженными за годы изучения генетики этого заболевания. Но вместе эти локусы составляют менее половины наследственной компоненты в риске развития БА. Возможно, большинство рискованных маркеров трудно обнаружить из-за слабого эффекта воздействия на фенотип, аллельной гетерогенности и низкой частота аллеля. Целью данной работы являлся поиск ассоциаций между патологическим фенотипом и полиморфными вариантами генов, которые были отобраны нами на основе анализа экзомов индивидуумов с низкими и высокими показателями когнитивных способностей. С помощью программы Sequenom AssayDesign ([www.sequenom.com](http://www.sequenom.com)) были сгенерированы две мультиплексные панели (31-плекс и 23-плекс), состоящие из 52 SNP. Генотипирование провели с помощью метода масс-спектрометрии MALDI-TOF с использованием платформы MassARRAY Analyzer 4 (Agena Bioscience™). В работу были включены 845 человек русской национальности, проживающих в Сибирском регионе (г. Томск): группа больных БА (190) и контрольная группа для БА (655). Для оценки ассоциаций полиморфных вариантов генов с патологическим фенотипом рассчитывали показатель “отношение шансов” – OR. Отличия считали статистически значимыми для  $p < 0,05$ . В результате анализа случай-контроль были выявлены 8 статистически значимых ассоциаций генотипов исследованных локусов с риском развития БА: rs1051130 гена *CCND3* (OR = 2,1;  $p = 0,0002$ ), rs2231975 гена *TRIM68* (OR = 1,18;  $p = 0,02$ ), rs2273769 гена *OSTF1* (OR = 1,4;  $p = 0,02$ ), rs3214684 гена *TMEM131L* (OR = 1,62;  $p = 0,005$ ), rs6051449 гена *VPS16* (OR = 1,51;  $p = 0,04$ ), rs784519 гена *CSRNP1* (OR = 2,34;  $p = 0,03$ ), rs4690821 гена *CPE* (OR = 1,91;  $p = 0,02$ ), rs761366 гена *ZC3H7B* (OR = 1,85;  $p = 0,002$ ). По литературным данным, ранее связь эти вариантов с БА не была выявлена. Возможно, эти ассоциации являются этноспецифичными именно для популяции русских Сибирского региона.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РНФ № 16-15-00020.

## ПОВЕДЕНИЕ РЕЦИПРОКНЫХ ГИБРИДОВ *Drosophila melanogaster* С НАРУШЕНИЕМ СИНТЕЗА LIMK1 ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССА

Васильева С.А.<sup>1</sup>, Никитина Е.А.<sup>1,2</sup>, Медведева А.В.<sup>1</sup>, Савватеева-Попова Е.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, <sup>2</sup>ФГБОУ ВО Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург.

[Swetlana.gorohowa@yandex.ru](mailto:Swetlana.gorohowa@yandex.ru)

Магнитное поле (МП) Земли обладает уникальным свойством – огромной проникающей способностью во все биологические системы; именно в этом поле происходит генезис всех биологических объектов. Поэтому вопросы, связанные с такими показателями поведения, как обучение, память, звукопродукция в ССМП (слабое статическое магнитное поле) особенно актуальны. Одной из самых привлекательных моделей, позволяющих напрямую связать гены, головной мозг, поведение и когнитивные функции, считается синдром Уильямса. Данный синдром возникает в результате делеции протяженностью 1500 т.п.н. в районе 7q11.23. Эта делеция захватывает более 20 генов, а множественные проявления, обусловленные гемизиготностью этих генов, описываются триадой: 1) дефект зрительно-пространственного ориентирования; 2) вербально-лингвистический дефект; 3) гиперсоциализация. Делеция минимальной протяженности приводит к гемизиготности гена *limk1*, отвечающего за когнитивную патологию. Поскольку когнитивная патология сглаживается с возрастом, изначальная убежденность в исключительной роли генов, напрямую определяющих морфологию мозга и поведение, сменилась представлениями о пластичности мозга и необходимости поиска эпигенетических факторов, влияющих на его развитие и функции, преломляемые в меняющемся поведении [1]. Пластичность генома обеспечивается архитектурой конкретных локусов ядра и локализацией транскрипционного аппарата. При этом приоритетным является организация хроматина. Конформационная организация пространства ядра является фактором лабильности, определяющим процессы дифференцировки и адаптации, в том числе высшей формы — обучения и памяти. В последнее время особенное значение придается родительскому происхождению геномов, которое необходимо учитывать для построения прогностических моделей в предиктивной медицине. Нами было предпринято изучение роли гена *limk1* в родительском эффекте при обучении и формировании памятного следа. При исследовании влияния ССМП на обучение и память у *Dr. melanogaster* были использованы реципрокные гибриды *Canton-S* × *agn<sup>ts3</sup>*; *agn<sup>ts3</sup>* × *Canton-S*; *Berlin* × *agn<sup>ts3</sup>*; *agn<sup>ts3</sup>* × *Berlin*. Для получения реципрокных гибридов были использованы линии дикого типа *Canton-S* и *Berlin*, а также линия *agn<sup>ts3</sup>*, несущая температуро-чувствительную (*ts*) мутацию по гену *limk1*. Ранее мы выявили нарушения среднесрочной памяти при действии ССМП у линии дикого типа *Canton-S* [2]. Напротив, у мутанта *agn<sup>ts3</sup>* данное стрессорное воздействие приводит к восстановлению способности к обучению и формированию памяти [3]. Результаты изучения обучения и памяти у реципрокных гибридов показали, что формирование памятного следа демонстрирует патернное наследование.

[1]. Никитина Е.А. и др., Синдром Уильямса как модель изучения пути гены – мозг – когнитивные функции: генетика и эпигенетика. // 2014, Acta Naturae, Т. 6, № 1 (20), С. 9 – 23.

[2]. Васильева С.А. и др., Когнитивные нарушения у *Drosophila melanogaster*: влияние гена *limk1*. // 2018, Мат. Всерос. молодеж. конф. "Современные аспекты интегративной физиологии", С. 29 – 30. [3]. Никитина Е.А. и др., Ослабленное магнитное поле Земли: влияние на транскрипционную активность генома, обучение и память у *Dr. Melanogaster*. // 2017, Ж. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова, Т. 67, № 2, С. 246–256. **Работа выполнена** при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 гг. (ГП-14, раздел 63).

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИОНОТРОПНЫХ ГЛУТАМАТНЫХ АМРА-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В МОЗГЕ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ

Зачепило Т.Г., Лопатина Н.Г.

*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова 6  
polosataya2@mail.ru*

АМРА рецепторы позвоночных регулируют медиаторную функцию нейронов, участвуя в возбуждающей / тормозной нейротрансмиссии, в синаптической пластичности, обучении и памяти. АМРА рецепторы позвоночных – тетрамеры – содержат субъединицы GluR1 – GluR4, каждая из которых кодируется отдельным геном. Ранее нашими поведенческо-фармакологическими исследованиями было показано, что в головном мозге пчелы присутствуют рецепторы, сходные с АМРА рецепторами млекопитающих, и необходимые для формирования памяти у пчелы. Сведения о структуре и экспрессии генов АМРА-подобных рецепторов у беспозвоночных животных значительно скромнее. Цель данной работы – идентификация мРНК АМРА-подобных рецепторов в мозге пчелы. Тотальную мРНК выделяли из мозга пчел. Проводили обратную транскрипцию и ПЦР с вырожденными специфичными праймерами (PrimerBLAST). Продукты ПЦР разделяли в агарозном геле и секвенировали по Сэнгеру (Евроген). Были получены нуклеотидные последовательности, относящиеся к двум различным рецепторам. Полученные данные будут способствовать пониманию структуры, функции и эволюции АМРА-подобных рецепторов у насекомых. Работа выполнена на животных из ЦКП «Биоколлекция ИФ РАН» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН.

## РОЛЬ ГЕНОВ СТРЕСС-ОТВЕТА У ВИДОВ РОДА *DROSOPHILA* В РЕАКЦИИ НА ГИПЕРТЕРМИЮ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

Земская Н.В.<sup>1</sup>, Коваль Л.А.<sup>1,2</sup> Москалев А.А.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д.28

<sup>2</sup> Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, г. Сыктывкар, Октябрьский пр., 55

<sup>3</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Россия, г. Долгопрудный, Институтский пер., 9  
[zemnadezhd@gmail.com](mailto:zemnadezhd@gmail.com)

Все организмы подвержены влиянию факторов окружающей среды, которые в определенных условиях могут вызывать стрессовое состояние организма. Известно, что устойчивость к стресс-факторам коррелирует с продолжительностью жизни. Так, например, короткоживущие мутанты модельных организмов имеют сниженную устойчивость к неблагоприятным факторам среды. С другой стороны, двустворчатый моллюск *Arctica islandica*, отдельные особи которого доживают до 507 лет, обладает высокой степенью стрессоустойчивости. В наших исследованиях на особях разных видов дрозофил было показано, что долгоживущие особи характеризуются более высокой стрессоустойчивостью. В связи с этим изучили различия уровня экспрессии генов стресс-ответа у видов рода *Drosophila*, резко отличающихся по продолжительности жизни: короткоживущего *D. kikkawai* и долгоживущего *D. virilis* (различия в максимальной продолжительности жизни в 3,5 раза). В ходе работы оценивали уровень экспрессии 8 генов стресс-ответа, кодирующих ферменты антиоксидантной защиты (каталаза и пероксиредоксин), белки теплового шока (*Hsp68* и *Hsp83*), белки репарации ДНК (*XRCC5*) и ответа на повреждение ДНК (*Gadd45*), а также протеинкиназу (*mTOR*), которая регулирует клеточный рост и выживание, и железо-связывающий митохондриальный шаперон фратаксин. Полученные результаты обсуждаются в докладе в связи с наблюдаемыми различиями по продолжительности жизни сравниваемых видов.

**Благодарности:** Данная работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-315-00086, а также в рамках государственного задания по темам "Молекулярно-генетические механизмы старения, продолжительности жизни и стрессоустойчивости *Drosophila melanogaster*" № гос. регистрации АААА-А18-118011120004-5.

## ВЛИЯНИЕ АНТИОКСИДАНТОВ И МУТАЦИЙ В ГЕНАХ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ АЭРОБНОЕ ДЫХАНИЕ МИКРОБИОТЫ, НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ НЕМАТОД *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Каткова-Жукоцкая О.А.<sup>1</sup>, Еремина С.Ю.<sup>1</sup>, Шакулов Р.С.<sup>2</sup>, А.С. Миронов А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Россия, Москва, ул. Вавилова, д. 32;

<sup>2</sup> ФГБУ Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Россия, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1  
[citonica@mail.ru](mailto:citonica@mail.ru)

Метаболические процессы, протекающие в бактериях, которые сопровождаются формированием активных форм кислорода (АФК), оказывают прямое воздействие на старение организма-хозяина.

В настоящей работе мы изучали влияние мутаций в генах *cyoA* и *cydA* *Escherichia coli*, кодирующих цитохромоксидазы *bo'* и *bd-I*, соответственно, на продолжительность жизни нематод *Caenorhabditis elegans*. Известно, что из-за нарушения процесса аэробного дыхания у этих мутантов наблюдается повышенный уровень генерации АФК.

Продолжительность жизни нематод оценивалась путем определения временного интервала, соответствующего выживаемости 50% популяции (СПЖ – средняя продолжительность жизни).

Результаты экспериментов по выращиванию *C. elegans* на газоне исследуемых штаммов показали, что СПЖ взрослых червей на мутантах *cyoA::kan* и *cydA::kan* увеличивалась на 15,5% и 12,8%, соответственно, по сравнению с таковой на контрольном штамме MG1655 дикого типа.

С другой стороны, известно, что положительное действие антиоксидантов на продолжительность жизни нематод связано со снижением уровня АФК. Мы провели эксперименты по изучению влияния антиоксиданта глутатиона (5мМ) на продолжительность жизни нематод при выращивании *C. elegans* на бактериальном газоне *B. subtilis* 168. Как и предполагалось, мы наблюдали увеличение продолжительности жизни при добавлении глутатиона на 16,4%. Аналогичные результаты были получены и при добавлении в среду роста другого антиоксиданта – N-ацетилцистеина (5 мМ) – СПЖ нематод увеличилась на 27,8%. Однако, при выращивании нематод на бациллах в условиях подавления аэробного дыхания (сконцентрированная культура в позднем стационаре) влияние глутатиона оказалось отрицательным и приводило к снижению СПЖ на 24,4%.

Скорее всего, некоторый уровень АФК необходим не только для нормальной жизнедеятельности, но и для увеличения продолжительности жизни. Выявленный нами позитивный эффект культивирования нематод на мутантах *E. coli*, дефектных по синтезу терминальных оксидаз *bo'* и *bd-I*, на продолжительность их жизни может быть интерпретирован в рамках концепции «митохондриального гормезиса». Мы предполагаем, что умеренные дозы АФК приводят к усилению аэробного дыхания, индукции защитных механизмов организма от окислительного стресса и, в конечном счете, к увеличению продолжительности жизни нематод.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда, грант № 17-74-30030.

## СТРАТЕГИИ ПОВЕДЕНИЯ КРЫС ДВУХ ЛИНИЙ, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ПОРОГУ ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ, В СИТУАЦИЯХ НОВИЗНЫ И КРАТКОСРОЧНОГО СТРЕССА

Левина А.С.<sup>1</sup>, Бондаренко Н.А.<sup>2</sup>, Ширяева Н.В.<sup>1</sup>, Вайдо А.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.6; <sup>2</sup>ООО «НПК Открытая наука», Россия, Москва, Московская обл., г. Красногорск, мкр. Опалиха, ул. Счастливая, д. 32

[anna.avia@gmail.com](mailto:anna.avia@gmail.com)

Типологические особенности нервной системы животных определяют стратегии их поведения в различных ситуациях, а также реактивность к стрессорным воздействиям и способность к адаптации. Цель представленной работы – исследование особенностей реакции на новизну и краткосрочного стресса, а также способности к адаптации и решению когнитивной задачи в стрессорных условиях у крыс двух линий, различающихся по порогу возбудимости нервной системы (ВП – высокий порог, низковозбудимые, 76-е поколение; НП – низкий порог, высоковозбудимые, 66-е поколение), селектированных в лаборатории генетики высшей нервной деятельности Института физиологии им. И.П. Павлова РАН [1] (животные из Биоколлекции ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (№ГЗ 0134-2016-0002)). Для оценки поведения применяли тесты «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Открытое поле», «Имитация захвата хищником», «Экстраполяционное избавление».

Показано, что в «Приподнятом крестообразном лабиринте» и «Открытом поле» крысы линии НП демонстрируют меньший уровень тревожности и больший уровень исследовательской активности, чем крысы линии ВП. В модели «Имитация захвата хищником» была обнаружена достоверно более высокая реактивность крыс линии НП по сравнению с линией ВП. В «Тесте экстраполяционного избавления» с двумя экспозициями к стрессорной ситуации погружения в воду внутри узкого цилиндра, из которого можно было выбраться, поднырнув под нижним его краем, было показано, что крысы линии НП в ходе двух посадок одинаково быстро и успешно решают задачу подныривания, в то время как крысы линии ВП демонстрируют неэффективное прыжковое поведение, усиливающееся во второй посадке, что может являться результатом более высокой чувствительности крыс ВП к стрессорной ситуации нахождения в воде и формирования у них контекстно обусловленной реакции страха.

Таким образом, высоковозбудимые крысы НП демонстрируют меньшую тревожность и более высокую адаптивность в умеренно стрессогенной новой обстановке; в более стрессогенных краткосрочных ситуациях реактивность крыс двух линий зависит от модальности стрессора. Это означает, что наследственно обусловленный уровень возбудимости нервной системы в результате селекции определяет поведение как в ситуации новизны, так и при кратковременном стрессе.

[1]. Вайдо А.И., Ситдигов М.Х., Селекция линий крыс по долгосрочному порогу возбудимости нервно-мышечного аппарата. // 1979, Генетика, Т.15, № 1, С.144-147.

**Благодарности:** работа поддержана РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-01024.

## АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Руденок М.М.<sup>1</sup>, Алиева А.Х.<sup>1</sup>, Колачева А.А.<sup>2</sup>, Угрюмов М.В.<sup>2</sup>, Сломинский П.А.<sup>1</sup>,  
Шадрина М.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики РАН, Россия, Москва, 123182, пл. академика И.В. Курчатова, д. 2; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Россия, Москва, 119334, ул. Вавилова, д. 26;

[\\_margaritamrudenok@gmail.com](mailto:_margaritamrudenok@gmail.com)

Болезнь Паркинсона (БП) - сложное системное заболевание, преимущественно связанное с гибелью дофаминергических нейронов. При этом, БП затрагивает практически все типы нейронов, что обуславливает сложную и гетерогенную картину клинических проявлений данного заболевания.

При более подробном рассмотрении функций белков, кодируемых ключевыми для БП генами, можно выделить процессы, в которые они вовлечены. К ним относятся процессы, связанные с митохондриальной дисфункцией, убиквитин-зависимой протеасомной деградацией белков, везикулярным транспортом и лизосомальной аутофагией. Стоит отметить, что девять из тринадцати ключевых генов семейных форм БП (*PINK1*, *PRKN*, *LRRK2*, *PARK7*, *SNCA*, *ATP13A2*, *FBXO7*, *VPS35*, *CHCHD2*) так или иначе связаны с функционированием митохондрий, а четыре (*SNCA*, *VPS35*, *LRRK2*, *ATP13A2*) вовлечены в процессы везикулярного транспорта. Однако изменение функционирования этих генов не описывает весь спектр нарушений, связанных с данными процессами при развитии БП. В связи с этим нами были отобраны гены *Znf746*, *Nrf1*, *Pprarg1a*, *Mybbp1a*, *Park2* и *Kif1b*, которые могут быть вовлечены в процессы митохондриальной дисфункции на ранних стадиях развития патогенеза при БП. Также нами были отобраны гены *Snca*, *Stx12*, *Nsf*, *Rab5a*, *Anxa2*, *Drd2*, *Anxa3* и *Mapt*, белки которых вовлечены в функционирование процессов транспорта. Нами был проведен анализ изменения относительных уровней мРНК этих генов в тканях мозга и периферической крови мышей с МФТП-индуцированными моделями трех досимптомных и ранней симптомной стадий БП.

Для всех генов были выявлены статистически значимые изменения относительных уровней мРНК. При этом было показано, что от ранней досимптомной стадии к ранней симптомной стадии растет количество статистически значимых изменений во всех тканях, что может свидетельствовать о постепенном вовлечении процессов транспорта и митохондриальной дисфункции в патогенез заболевания. Для двух генов, *Nrf1* и *Anxa2*, были выявлены наиболее выраженные изменения во всех изучаемых тканях и на всех стадиях. Так, для гена *Nrf1* было показано увеличение уровня мРНК во всех изученных образцах, что говорит о его вовлечении в компенсаторные механизмы через нормализацию митохондриального биогенеза. Ген *Anxa2* ранее не рассматривался как ген-кандидат БП. Выявленные достоверные изменения уровней мРНК *Anxa2* свидетельствуют о вовлечении процессов везикулярного транспорта в компенсаторные механизмы при БП и о важной роли этого гена на ранних стадиях заболевания.

## АНАЛИЗ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА *NTE* ЧЕЛОВЕКА В МОТОРНЫХ НЕЙРОНАХ И ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ НА МОДЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Рябова Е.В.<sup>1</sup>, Жмуйдина Д.Р.<sup>1,2</sup>, Сурина Н.В.<sup>1,2</sup>, Мелентьев П.А.<sup>1</sup>, Саранцева С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИЦ «Курчатовский институт» - ПИЯФ, Россия, Гатчина, Орлова роща

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

[ryabova\\_ev@pnpi.nrcki.ru](mailto:ryabova_ev@pnpi.nrcki.ru)

Мутации в гене *NTE* (*neuropathy target esterase*) вызывают сложный синдром у людей, который включает аутосомно-рецессивную форму наследственной спастической параплегии типа SPG39, синдром Лоренса-Муна, синдром Гордона Холмса, синдром Гаучера-Нейгауза и синдром Оливера-Макфарлейна. *NTE* широко выражен в нейронах, но также образуется в глии; однако его функция в глиальных клетках до сих пор оставалась неизвестной. Ортологом *NTE* у *Drosophila melanogaster* является ген *swiss cheese* (*sws*). У данной модели ранее было показано, что потеря белка *SWS* в псевдокатриджной глии вызывает образование многослойного глиального обертывания в коре ламины [1]. Также подавление его экспрессии в глиальных клетках приводит к повреждению аксонов.

*NTE* и *SWS* выполняют функцию сериновой эстеразы и имеют домен пататин-подобной фосфолипазы (*PNPLA6*) [2]. Связывание органофосфатов с этим доменом приводит к дегенерации мотонейронов и, следовательно, локомоторному нарушению как у мух, так и у человека. Это вызывает спорадическую форму нейропатии (*OPIDN*, *organophosphorus compound-induced delayed neuropathy*), приводящая к атрофии мышц кистей у людей.

Ранее нами было показано нарушение нейромышечных соединений моторных нейронов и изменение морфологии некоторых типов глиальных клеток у *Drosophila* при потере *SWS*. Данная же работа направлена на изучение влияния увеличенной экспрессии гена *NTE* (*UAS-NTE*) человека на *Dr. melanogaster* в моторных нейронах и глиальных клетках. Результаты данного исследования показывают, что не только потеря белка и мутации в гене приводят к различным нарушениям, но и его увеличенная экспрессия.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-09041.

Dutta S., Rieche F., Eckl N., Duch C., Kretschmar D. Glial expression of Swiss cheese (*SWS*), the *Drosophila* orthologue of neuropathy target esterase (*NTE*), is required for neuronal ensheathment and function// 2016, Disease Models & Mechanisms., V.9 – P. 283-294

Lush, M.J., Li Y., Read D.J., Willis A.C., Glynn P.. Neuropathy target esterase and a homologous *Drosophila* neurodegeneration-associated mutant protein contain a novel domain conserved from bacteria to man// 1998, Biochem J., V.15 – P. 1-4

## MITOCHONDRIAL NETWORKS IN FIBROBLASTS OF SKIN PATIENTS WITH THE COCKAYNE SYNDROME

Slizhov P.A.,<sup>1,2</sup> Dolinina T.I.,<sup>2,5</sup> Pleskach N.M.,<sup>2</sup> Zherebtsov S.V.,<sup>2</sup> Bulatnikova M.L.,<sup>3</sup>  
Mikhelson, V.M.<sup>2</sup> Spivak I.M.<sup>2,4,5</sup>

<sup>1</sup> Herzen State Pedagogical University of Russia, 191186,

<sup>2</sup> Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064,

<sup>3</sup> Pokrivsky Bank of Stem Cells, St. Petersburg, 199106,

<sup>4</sup> Saint-Petersburg State University, 199034, and

<sup>5</sup> Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, 195251;

[maidel@bk.ru](mailto:maidel@bk.ru) [mikhels@incras.ru](mailto:mikhels@incras.ru)

The Cockayne syndrome is a rare autosomal recessive disease, described in the 1930s by Edward Alfred Cockayne. Patients suffer from cachexia dwarfism (when the weight is lowered compared to the norm even more than the growth), photosensitivity, deafness, various visual impairments: optic atrophy, cataracts, degeneration of the corneal epithelium, retinal injuries, as well as neurodegenerative symptoms, such as partial demyelination of subcortical structures, increase in ventricular size, cerebral atrophy, calcification of basal ganglia. The average life expectancy of patients with the Cockayne syndrome is 12 years. In the cells of patients with the Cockayne syndrome, the process of nucleotide excision repair (NER), its branch transcribed coupled with transcription (transcription coupled repair, TCR, TC-NER) is disrupted. In the study of mitochondrial cell networks in patients with the Cockayne syndrome by confocal microscopy in the presence of mitotracer, it was shown that mitochondrial networks are destroyed in cells of the Cockayne syndrome, and the mitochondria themselves occupy almost the entire cytoplasm, which is very typical for healthy cell cultures in incomparably higher passages. This suggests that the cells of patients with the Cockayne syndrome, already accelerated aging, are an ideal model for testing mitochondrial-targeted geroprotectors.

## НОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В ТЕРАПИИ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Слободина А.Д.<sup>1,2</sup>, Мелентьев<sup>1</sup>, Шварцман А.Л.<sup>1</sup>, Саранцева С.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, Россия, Гатчина, микрорайон Орлова Роца, 1; <sup>2</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Россия, Санкт-Петербург, Политехническая улица, д. 29

[sashylikslobodina@mail.ru](mailto:sashylikslobodina@mail.ru)

Наиболее распространенной формой первичных нейродегенеративных заболеваний в современном обществе является болезнь Альцгеймера (БА). Это заболевание сопровождается прогрессирующим когнитивным снижением, расстройством памяти и речи, развитием слабоумия. Эта деменция поражает 10–15% населения в возрасте свыше 65 лет в большинстве развитых стран. На сегодняшний день не существует лекарства, способного остановить или замедлить течение БА, которое обычно кончается смертельным исходом через 5–9 лет после постановки диагноза

Основными патоморфологическими признаками БА в мозге больных являются образования экстраклеточных фибриллярных агрегатов амилоидного пептида  $\beta$  (A $\beta$ ). При скрининге комбинаторных пептидных библиотек были определены пептиды, блокирующие различные стадии образования амилоидных фибрилл, включая элонгацию A $\beta$ . Эти пептиды не могли проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Для превращения уже найденных ингибиторов образования амилоида в потенциальные терапевтические мы модифицировали их, присоединив к их последовательности вектора, способные проникать через клеточные мембраны и ГЭБ.

В настоящей работе проводилось изучение способности составных пептидов, состоящих из пептида-ингибитора и векторного пептида, ингибировать рост фибрилл A $\beta$ , а также исследовалось действие пептидов на патогенез болезни Альцгеймера на модельном объекте *Drosophila melanogaster*.

Методами атомно-силовой и трансмиссионной электронной микроскопии установили, что инкубация A $\beta_{42}$  с исследуемыми составными пептидами в течение 24 часов при температуре 37<sup>0</sup>C снижает агрегацию A $\beta_{42}$ , т.е. эти пептиды обладают антиамилоидной активностью. Метод динамического светорассеяния подтвердил, что все пептиды проявляют ингибиторный эффект на формирование амилоидных фибрилл A $\beta_{42}$ . Мы проанализировали продолжительность жизни, нейродегенерацию в мозге, обучение и память животных при кормлении их пептидами. Для этого использовали трансгенную линию *Drosophila melanogaster*, несущую в геноме последовательность, кодирующую пептид A $\beta_{42}$ . Методом конфокальной микроскопии показано, что изучаемые пептиды с разной эффективностью проходят через ГЭБ *Drosophila melanogaster*. Часть пептидов оказывает положительные эффекты на продолжительность жизни, уровень нейродегенерации, обучение и память *Drosophila melanogaster*.

Для дальнейших экспериментов были отобраны препараты с наибольшим антиамилоидогенным потенциалом.

Благодарности: Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-29-01350.

## ЭКТОПИЧЕСКАЯ КОНДИЦИОННАЯ И ПОВСЕМЕСТНАЯ КОНСТИТУТИВНАЯ ЭКСПРЕССИЯ *CRY* ПРОДЛЕВАЮТ ЖИЗНЬ ОСОБЕЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ОСВЕЩЕНИЯ

Соловьёв И.А.<sup>1,2</sup>, Щеголева Е.В.<sup>1</sup>, Шапошников М.В.<sup>1</sup>, Москалев А.А.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии КомиНЦ УрО РАН, Россия, Сыктывкар, ул. Коммунистическая 28, 167000 ; <sup>2</sup>Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина;

<sup>3</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет)

[ilyasolovev-ksc@yandex.ru](mailto:ilyasolovev-ksc@yandex.ru)

Фоторезистентность - явление обусловленное возрастной недостаточностью фоторецепторных и/или трансдукторных молекул в организме, вызванное в случае *Drosophila melanogaster* снижением профиля экспрессии кодирующих их генов [1]. Дефицит рецепторных молекул, кодируемых геном *cry* приводит к снижению уровня входного сигнала, т.е. к практически полной утрате способности рецептировать синий свет и адаптироваться к фоторежиму. На примере трансгенных линий *Elav-GAL4-GS>UAS-cry24* и *tim-GAL4>UAS-cry24*, сверхэкспрессирующих *cry* пан-нейронально в присутствии RU486 и конститутивно в условиях различных режимов освещения (LL 12ч/12ч, LD 12ч/ 2ч и DD 12ч/12ч; L-свет, D-темнота) показаны достоверные приросты медианы продолжительности жизни. Особенно следует отметить значительный положительный прирост (+33%,  $p < 0.001$  согласно критерию Гехана-Бреслоу-Вилкоксона) у самок в условиях непрерывной фотоэкспозиции и при LD 12ч/12ч [2]. Установлена также способность *cry* модифицировать горметический эффект ограничительной диеты у самцов при его сверхэкспрессии в жировом теле при LL 12ч/12ч (+20% к медианной продолжительности жизни,  $p < 0.05$ , генотипы - *P{Switch1}106>UAS-cry12*; *P{Switch1}106>UAS-cry24*). Сверхактивация *cry* в мышцах на фоне высококалорийной диеты сокращает жизнь самцов (-12-60%,  $p < 0.05$ , генотипы - *GSG-311-2>UAS-cry12*; *GSG-311-2>UAS-cry24*), не влияя на тот же показатель у самок при LL 12ч/12ч [3].

1. Соловьёв И.А., Шапошников М.В., Москалев А.А. Генетические механизмы влияния света и фототрансдукции на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster*. // 2018, Вавиловский журнал генетики и селекции, V.22, P.872-880.
2. Solovev I., Dobrovolskaya E., Shaposhnikov M., Sheptyakov M., Moskalev A., Neuron-specific overexpression of core clock genes improves stress-resistance and extends lifespan of *Drosophila melanogaster*. // 2018, Experimental gerontology.
3. Solovev I., Shegoleva E., Fedintsev A., Moskalev A., Circadian clock genes' overexpression in *Drosophila* alters diet impact on lifespan// 2018, Biogerontology.

## ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ КИНЕТИНА НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Яковлева Д.В.<sup>1,2</sup>, Земская Н.В.<sup>1,2</sup>, Шапошников М.В.<sup>1,2</sup>, Москалев А.А.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д.28; <sup>2</sup>Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, г. Сыктывкар, Октябрьский пр., 55; <sup>3</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет), Россия, г. Долгопрудный, Институтский пер., 9.

[dashka-konst@yandex.ru](mailto:dashka-konst@yandex.ru)

Цитокинины – гормоны растений пуринового ряда, которые стимулируют рост, развитие и деление клеток. Кроме того, они могут оказывать воздействие на клетки и ткани животных, способны защищать клетки от различных форм стресса, а также предотвращать процессы, связанные со старением. Основным представителем цитокининов – кинетин, который способен увеличивать продолжительность жизни и устойчивость *C. elegans* к окислительному стрессу и к гипертермии [1]. Кроме того, на фибробластах человека показано, что кинетин способен замедлять клеточное старение [2]. Исследования на хорошо изученном модельном объекте *Drosophila melanogaster* могут способствовать выяснению механизмов действия цитокининов на продолжительность жизни и стрессоустойчивость организмов. В докладе будут представлены впервые полученные результаты по влиянию 10 производных кинетина в концентрациях 1, 10, 100 мкмоль/л на продолжительность жизни и стрессоустойчивость (гипертермия, действие прооксиданта параквата и голодание) самцов и самок *Drosophila melanogaster*.

**Благодарности:** Данная работа выполнена в рамках государственного задания по темам "Молекулярно-генетические механизмы старения, продолжительности жизни и стрессоустойчивости *Drosophila melanogaster*" № гос. регистрации АААА-А18-118011120004-5

[1] Natural plant hormones cytokinins increase stress resistance and longevity of *Caenorhabditis elegans* / Kadlecová A., Jirsa T., Novak O., Kammenga J., Strnad M., Voller J. // Biogerontology – 2018, Vol.19 – p. 109-120.

[2] Rattan S., Clark B. Kinetin delays the onset of ageing characteristics in human fibroblasts // Biochem Biophys Res Commun. – 1994, Vol. 201 – p. 665-672.

## ПОЛИМОРФИЗМ ПРОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНА NF-KB У ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ

Михаленко Е.П.<sup>1</sup>, Яцевич К.К.<sup>1</sup>, Кузьминова Е.И.<sup>1</sup>, Галиновский Д.В.<sup>1</sup>, Байда А.В.<sup>2</sup>,  
Михалюк Р.А.<sup>2</sup>, Воронины Л.П.<sup>2</sup>, Кильчевский А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, г. Минск, ул. Академическая, 27;

<sup>2</sup> Белорусская медицинская академия последипломного образования, Беларусь, г. Минск, ул.  
П. Бровки, 3, корпус 3.

[E.Michalenko@igc.by](mailto:E.Michalenko@igc.by)

В научных центрах мира проводится активный поиск генов, влияющих на продолжительность жизни человека. В качестве генов-кандидатов, ассоциированных с продолжительностью жизни, прежде всего, рассматривают гены, кодирующие транскрипционные факторы.

Цель работы – сравнить частоту распределения полиморфных вариантов гена NF-kB у долгожителей Беларуси и в группе сравнения.

В работе проанализировали образцы геномной ДНК 326 жителей Беларуси, из которых 150 долгожителей Беларуси и 176 – группа сравнения. Группа сравнения представлена 118 добровольцами младше 90 лет и 58 пациентами, умершими по причинам хронических заболеваний. Для выявления SNP полиморфизмов rs2233406 и rs3138053 использовали метод секвенирования по Сэнгеру, а для анализа тетраплекса INDEL полиморфизма rs28362491 – метод капиллярного электрофореза. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы GraphPad InStat Version 3.05 и веб-инструмента SNPStats (<https://www.snpstats.net>). Тест на соответствие выборки равновесию Харди–Вайнберга проводили с использованием метода  $\chi^2$  ( $\alpha = 0,05$ ;  $df = 1$ ). Статистическую значимость различий между группами определяли с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона; в случае, если объем выборки не превышал 5 случаев, использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса.

В группе долгожителей распределение частот аллельных вариантов полиморфизма rs28362491 не соответствовало теоретически ожидаемому равновесному распределению Харди–Вайнберга ( $p < 0,02$ ). Это несоответствие выявлено только у мужчин-долгожителей. Данный полиморфизм был исключен из дальнейшего анализа.

Было показано, что носители генотипов СТ и ТТ rs2233406 достоверно чаще встречались у долгожителей Беларуси, чем среди добровольцев младше 90 лет ( $p = 0,034$ ) и умерших пациентов группы сравнения ( $p = 0,011$ ). Данный полиморфизм связан с пониженной активностью промотора транскрипционного фактора NF-kB, что в свою очередь снижает риск развития сердечно-сосудистых, дыхательных и иммунных заболеваний [1-3].

Выявление молекулярно-генетических маркеров, связанных со старением и долголетием, позволит разрабатывать эффективные мероприятия по профилактике возраст-ассоциированных заболеваний.

[1]. Abdallah A., Inhibitor kappa B-alpha (Ikappa B-alpha) promoter polymorphisms in UK and Dutch sarcoidosis. // 2003, Genes Immun., V.4, P.450–454.

[2]. Li R.N., Inhibitor Ikappa B alpha promoter functional polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. // 2010, J. Clin. Immunol., V. 30, P.676–680.

[3]. Lai H., Association between genetic polymorphism in NFKB1 and NFKBIA and coronary artery disease in a Chinese Han population. // 2015, Int. J. Clin. Exp. Med., V. 8, P.21487-21496.

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЕ РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ХРОМАТИНА И ЭКСПРЕССИЯ МИРНК МОГУТ СИНХРОННО ВОВЛЕКАТЬСЯ В КОНСОЛИДАЦИЮ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ

Л.Н. Гринкевич

ФГБН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия;

Санкт-Петербург, Набережная Макарова б.

[Larisa\\_Gr\\_spb@mail.ru](mailto:Larisa_Gr_spb@mail.ru)

В последние годы в понимании механизмов пластичности мозга осуществлен значительный прорыв, главным образом связанный с развитием эпигенетики. Показано вовлечение в когнитивные функции метилирования ДНК, посттрансляционных модификаций гистонов и РНК-интерференции, а также возможность восстановления когнитивных функций, нарушенных в ряде заболеваний, через воздействие на данные процессы. Пионерские работы в этой области выполнены в лаборатории Э. Кандела на животных с простой нервной системой, а именно моллюсках.

Для изучения механизмов долговременной памяти (ДП) мы используем выработку рефлекса пищевой аверсии у моллюска *Helix*. Нами показано, что при консолидации ДП происходит значительная индукция как ацетилирования, так и метилирования гистонов. В регуляцию данных процессов вовлекаются и активаторные, и тормозные пути, причем как их избыточная активация, так и ингибирование могут нарушать формирование ДП. Известно, что факторами, негативно регулирующими экспрессию генов, являются также микроРНК (миРНК), и, соответственно, их изучение в связи с обучением представляет несомненный интерес.

МикроРНК - это консервативные РНК, подавляющие экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. Причем, для огромного числа мРНК, закодирована миРНК, их потенциальный убийца. МиРНК вовлечены во множество процессов, в том числе в формирование ДП, а также в патогенез заболеваний, связанных с когнитивными нарушениями. Однако в связи с многообразием мишеней миРНК и сложностью устройства ЦНС изучены буквально единицы. МиРНК образуются из пре-миРНК разрезанием ферментом Dicer. Его блокада приводит к нарушению экспрессии миРНК. Используя этот факт, мы провели исследования по влиянию ингибирования Dicer на формирование ДП у *Helix* с использованием Поли-L-лизина (PLL), который инъецировали спустя разные сроки после тренировок. Показано, что ингибирование Dicer в интервале от 1 до 3-х часов после обучения приводит к ухудшению формирования ДП. То есть в этот период экспрессируются миРНК функционально важные для формирования ДП. В этот период нами наблюдалась и активация модификаций гистонов, что может свидетельствовать о скоординированности индукции хроматиновых перестроек и экспрессии миРНК для консолидации ДП. Ведущую роль здесь может играть сигнальный каскад MAPK/ERK способный регулировать оба этих процесса. В докладе будут обсуждены способы регуляции эпигенетических процессов, позволяющие улучшать когнитивные способности, в том числе с применением CRISPR/CAS9.

**Благодарности:** Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-01681 и Программой фундаментальных научных исследований государственных академий на 2013–2020 годы (ГП-14, раздел 63).

## РОЛЬ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ МЕТАБОЛИЗМ ЭНДОГЕННОГО МЕТАНОЛА И ФОРМАЛЬДЕГИДА, В СТАРЕНИИ И ПОВЫШЕНИИ РИСКА ВОЗНИКНОВЕНИЯ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Комарова Т.В.<sup>1,2</sup>, Шешукова Е.В.<sup>1</sup>, Шпудейко П.С.<sup>1,2</sup>, Липскеров Ф.А.<sup>1,2</sup>, Дорохов Ю.Л.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Россия, Москва, ул. Губкина, д. 3

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1

[t.v.komarova@gmail.com](mailto:t.v.komarova@gmail.com)

Метанол и формальдегид – это нормальные продукты жизнедеятельности растений и животных [1]. Для человека экзогенный метанол рассматривается как яд, поскольку в организме человека алкогольдегидрогеназы и альдегиддегидрогеназы превращают его в муравьиную кислоту с образованием токсичного формальдегида в качестве промежуточного продукта. Эндогенный метанол, в свою очередь, является продуктом деятельности кишечной микрофлоры и играет роль сигнальной молекулы, регулирующей активность генного кластера, поддерживающего концентрацию метаболитического формальдегида в тканях человека на низком уровне [2]. Сбой в работе этой системы приводит к повышению содержания формальдегида в мозге пожилых людей и гибели нейронов, что проявляется при болезни Альцгеймера. Созданная нами концепция участия метаболитического формальдегида в жизни человека открывает перспективу поиска механизмов и средств снижения риска возникновения не только онкологических [3], но и нейродегенеративных заболеваний человека. Одним из таких средств может оказаться известный природный и эндогенный для человека антиоксидант альфа-липоевая кислота (АЛК). Это вещество, которое ранее рассматривалось как витамин группы «В», обладает плеiotропным действием и оказывает благоприятный эффект при лечении различных заболеваний человека. До недавнего времени исследователи не предполагали участие АЛК в контроле эндогенного формальдегида. Однако мы впервые в экспериментах на животных и на людях-добровольцах показали, что АЛК снижает уровень эндогенного формальдегида, одновременно увеличивая (преимущественно в тканях мозга) накопление мРНК генов *ADH1*, *ADH5*, *CAT*, *ALDH2*, *CYP2E1*, участвующих в метаболизме метанола и формальдегида. Теперь благоприятное влияние АЛК на течение ряда заболеваний можно объяснить не только ее антиоксидантными свойствами, но и способностью контролировать метаболизм эндогенного формальдегида, влияя на активность кластера генов, кодирующих ферменты метаболизма метанола и формальдегида.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-20062 мол\_a\_вед.

Цитируемая литература

1. Dorokhov, Y.L., Shindyapina, A.V., Sheshukova, E.V., Komarova, T.V., Metabolic Methanol: Molecular Pathways and Physiological Roles. // 2015, *Physiol. Rev.*, V. 95, P. 603–644.
2. Komarova, T.V., Petrunia, I.V., Shindyapina, A.V., Silachev, D.N., Sheshukova, E.V., Kiryanov, G.I., Dorokhov, Y.L. Endogenous Methanol Regulates Mammalian Gene Activity. // 2014, *PLoS ONE*, V. 9, e90239.
3. Dorokhov, Y.L., Sheshukova, E.V., Bialik, T.E., Komarova, T.V. Human Endogenous Formaldehyde as an Anticancer Metabolite: Its Oxidation Downregulation May Be a Means of Improving Therapy. // 2018, *BioEssays*, V. 40 (12), e1800136

## РЕШЕНИЕ ЭЛЕМЕНТАРНОЙ ЛОГИЧЕСКОЙ ЗАДАЧИ ЛАБОРАТОРНЫМИ МЫШАМИ, КАК ПРИЗНАК ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ.

Огиенко Н.А., Перепелкина О.В., Тарасова А.Ю., Лильп И.Г., Полетаева И.И.,  
МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д.1 стр.12.  
[ingapoletaeva@mail.ru](mailto:ingapoletaeva@mail.ru)

На основе генетически гетерогенной популяции мышей, полученной от скрещивания нескольких линий, в 2008 году был начат новый селекционный эксперимент, имевший целью выведение линии с более высокими, чем в исходной популяции, показателями решения элементарной логической задачи (на экстраполяцию направления движения). Ранее при селекции крыс на этот признак препятствием стала очень высокая тревожность селектированных животных, которая не позволяла тестировать их поведение. В настоящем эксперименте для получения следующего поколения брали мышей с высокими показателями решения теста при условии, что у них не обнаруживается боязни обстановки опыта. Лабораторные мыши и крысы в большинстве случаев решают задачу на экстраполяцию на случайном уровне, т.е. не обнаруживают такой способности. В начальных поколениях селекции доля правильных решений теста у мышей селектируемой линии (ЭКС) была устойчиво выше 50% уровня, тогда как у контроля (неселектированная популяция) успешность решения варьировала в поколениях. Однако, начиная с F10, ответ на селекцию более не наблюдался – успешность решения теста проявлялась у мышей ЭКС неустойчиво. Тревожность мышей линии ЭКС (т.е. второй признак, на который шла селекция) в начальных поколениях была (по нескольким показателям) достоверно ниже, чем в контроле, но позднее, отличие от него стало неустойчивым. Начиная с F9, мышей ЭКС тестировали на успешность решения другой элементарной логической задачи. Это был тест на поиск входа в укрытие, в котором животному надо было понимать (как и в тесте на экстраполяцию) свойство «неисчезаемости» объекта, но не надо было (как при экстраполяции направления движения) оценивать движение объекта. Мыши ЭКС решали данный тест достоверно успешнее во всех последующих поколениях (до F18). Тесты на новизну (реакция на новую пищу, реакция на новый предмет) также показали превосходство мышей линии ЭКС. Генетический аспект собственно когнитивных способностей (когда оценивают способность решить задачу без предварительного научения) исследуют преимущественно у животных с генно-инженерным «вмешательством». Такое поведение анализируют у нокаутов и нокдаунов ряда генов, важных для метаболизма и коммуникативных свойств нейронов. Селекционных экспериментов по таким признакам, практически нет. Наш опыт селекции мышей на способность к решению теста на экстраполяцию, показал, что, несмотря на «неуспех» селекции по основному признаку, когнитивные способности мышей селектированной линии оказались выше, чем контроле, что свидетельствует об изменениях в организации их поведения.

При выполнении работы авторы руководствовались правилами Декларации ЕС 2010 (2010/63/EU). Работа частично поддержана РФФИ, грант 16-04-01169А, и темОИ «Нейробиологические основы поведения животных Госпрограмма N NIOKTR AAAA-A16-116021660055-1»

## КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА: ОТ МОДЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЯ К АНАЛИЗУ ПАЦИЕНТОВ

Шадрина М.И.<sup>1</sup>, Алиева А.Х.<sup>1</sup>, Филатова Е.В.<sup>1</sup>, Доронина К.С.<sup>2</sup>, Доронина О.Б.<sup>2</sup>, Росинская А.В.<sup>3</sup>, Пчелина С.Н.<sup>4</sup>, Угрюмов М.В.<sup>5</sup>, Иллариошкин С.Н.<sup>6</sup>, Сломинский П.А.<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Россия, г. Москва, пл. Ак. Курчатова, д.2; <sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, РФ, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; <sup>3</sup>Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Приморская краевая клиническая больница № 1, РФ, г. Владивосток, ул. Алеутская, 57;

<sup>4</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра "Курчатовский институт", Ленинградская обл., г. Гатчина, мкр. Орлова роща, д. 1; <sup>5</sup>ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, Россия, г. Москва, ул. Вавилова, д. 26; <sup>6</sup>Научный центр неврологии РАМН, РФ, г. Москва, Волоколамское шоссе, д. 80

[shadrina@img.ras.ru](mailto:shadrina@img.ras.ru)

В настоящее время не вызывает сомнения очень сложный характер патогенеза болезни Паркинсона (БП), обусловленный нарушением функционированием различных метаболических систем, которое приводит к недостаточности дофаминергической системы. Несмотря на достигнутый прогресс в изучении патогенеза БП, на данный момент нет единой картины этиопатогенеза данного заболевания. Кроме того, все известные гены и описанные в них мутации не могут объяснить все случаи семейной формы БП. В связи с этим нами ведется комплексный анализ молекулярно-генетических факторов, связанных с развитием данной патологии, который основан как на изучение моделей БП и выборки пациентов с БП, так и на использовании различных методических подходов (от анализа отдельных генов до полногеномного анализа на уровне ДНК и РНК). Полноэкзомное секвенирование ДНК пациентов с предполагаемой аутосомно-доминантной формой БП позволило выявить восемь новых генов, мутации в которых могут приводить к развитию заболевания. При этом в одном гене, *SCN3A*, было выявлено три различных варианта, встречающихся по одному разу у трех пациентов. Полнотранскриптомный анализ двух моделей БП (модели развернутой клинической стадии (введение 6-ГДА в стриатум крыс) и моделей ранней и доклинической стадии БП (введение различных доз МФТП мышам)) позволил выявить основные метаболические процессы, связанные с развитием заболевания как ранее описанные и четко связанные с патогенезом БП (митохондриальная дисфункция, убиквитин-зависимый протеолиз белков), так и новые, которые могут играть важную роль на разных этапах патогенеза (везикулярный транспорт, проекция нейронов, РНК-сплайсинг и процессы миелинизации). Полученные данные полнотранскриптомного анализа были сопоставлены с данными полнотранскриптомного анализа мРНК лимфоцитов периферической крови пациентов с БП и было показано, что и в лимфоцитах пациентов с БП изменена экспрессия генов, связанных с процессами везикулярного транспорта и РНК-сплайсингом. Детальный анализ уровня мРНК отдельных генов и уровня некоторых микроРНК в периферической крови пациентов с БП позволил выявить несколько генов, уровень которых специфически изменяется у нелеченных больных БП, и несколько микроРНК, которые могут быть вовлечены в формирование ответа на терапию при БП. Получены так же первичные данные по РНК секвенированию лимфоцитов и фибробластов монозиготных близнецов, дискордантных по наличию БП.

## ПОИСК ГАПЛОТИПОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С УРОВНЕМ КОГНИТИВНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ПОЛНОЭКЗОМНЫХ ДАННЫХ

Вагайцева К.В.<sup>1</sup>, Зарубин А.А.<sup>1</sup>, Бочарова А.В.<sup>1</sup>, Макеева О.А.<sup>1</sup>, Маркова В.В.<sup>1</sup>,  
Степанов В.А.<sup>1</sup>

Научно-исследовательский институт медицинской генетики

Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук", Россия, Томск, Ул. Набережная реки Ушайки, 10, 634050

[kseniya.simonova@medgenetics.ru](mailto:kсениya.simonova@medgenetics.ru)

Когнитивные способности – наследственный, многофакторный признак, для которого обнаружено несколько тысяч ассоциированных полиморфных вариантов генов [1]. Однако, многие из них не подтверждают показанные ассоциации в репликативных исследованиях. В рамках полноэкзомного ассоциативного исследования когнитивных способностей (КС) в популяции русских, для усиления статистической мощности подхода, был проведен анализ структуры неравновесия по сцеплению SNP маркеров генов, ранее показавших значимые ассоциации с уровнем КС по данным GWAS, с последующим анализом ассоциаций гаплотипов. Анализ проводился на полноэкзомных данных 86 образцов ДНК пожилых русских г. Томска здоровых в отношении неврологической и нейродегенеративной патологии с минимальными и максимальными результатами теста МоСА (монреальская шкала оценки когнитивных функций), адаптированного для русской популяции. Полноэкзомные данные прошли фильтрацию на качество результатов. Для анализа были отобраны только те генотипы глубина прочтения (DP) которых была более 10 и качество генотипов (GQ) более 60. Структуру неравновесия по сцеплению определяли с помощью Haploview 4.2. Частоты гаплотипов определяли с помощью EM алгоритма. LD между парами SNP оценивалось с помощью коэффициента  $D'$  и коэффициента корреляции  $r^2$  Пирсона. Блочная структура определялась посредством алгоритма "Solid spine LD". Для анализа ассоциаций гаплотипов с уровнем когнитивных способностей использовали пермутационный тест, количество пермутаций составило 50000. Ассоциацию ( $p < 0,05$ ) с когнитивными способностями (баллами МоСА теста) с учетом 50000 пермутаций показали гаплотипы 12 анализируемых генов: *KMT2D*, *SLC22A23*, *TNRC6A*, *EFTUD1*, *RAI1*, *CNBD2*, *AANAT*, *CACNA1D*, *RBM6*, *BTN3A2*, *AUTS2*, *TSNARE1*. Достоверные ассоциации на однопроцентном уровне значимости были показаны для гаплотипа AGCCG гена *AUTS2* (rs2293500, rs941346, rs200035761, rs79439293, rs113194983), и гаплотипа GG TAGATGATGCACTTGGAGCCTCCGAGCGC гена *KMT2D* (12:49415763, rs372675867, rs149075869, rs55776396, rs833817, rs11168828, rs370628102, rs148365230, rs11168830, rs11614738, rs775862454, rs201119371, rs3741622, rs80132640, rs150875973, rs61942218, rs75937132, 12:49433105, rs759516070, rs10747559, rs201190869, rs199896881, rs145103774, rs78764337, rs539141809, rs75566539, rs833818, rs112921115, rs112236653, rs2241726, rs75226229, rs180809568, rs367925817). Гаплотипы еще 7 генов показали ассоциации ( $p < 0,05$ ) без использования пермутационного теста: *BTN2A1*, *SREBF2*, *MAPT*, *C4orf45*, *LMF1*, *SAXO2*, *CLCN2*.

1. GWAS Catalog. Онлайн ресурс. URL: <https://www.ebi.ac.uk/gwas/> Дата последнего обращения 13.03.2019

## ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА *Nejire* В РАЗНЫХ ТКАНЯХ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Коваль Л.А.<sup>1,2</sup>, Москалев А.А.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28; <sup>2</sup> ФГБОУ ВО "СГУ им.Питирима Сорокина", Россия, г. Сыктывкар, Октябрьский пр-т, 5; <sup>3</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Россия, Московская обл., г. Долгопрудный, Институтский пер., 9

[lyubov.schilova@yandex.ru](mailto:lyubov.schilova@yandex.ru)

Ген *Nejire* кодирует транскрипционный коактиватор СВР, который ацетирует несколько ядерных белков, таких как гистон H3 (по K18, K27) и H4 (по K8). Коактиватор СВР участвует в пролиферации клеток, передаче сигналов внутри клетки, а также в дифференцировке клеток и в паттернах индивидуального развития. Все эти функции неразрывно связаны с долголетием. Поэтому мы предположили, что дополнительная экспрессия данного гена улучшит качество жизни дрозофил и тем самым приведет к увеличению продолжительности жизни. При этом мы сверхэкспрессировали *Nejire* в разных тканях дрозофил: в жировом теле (аналог печени), в кишечнике, а также повсеместно в нервной системе, и отдельно в мотонейронах. Полученные данные свидетельствуют о вкладе данного гена в процессы старения и устойчивости к стрессам.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта УрО РАН № 18-7-4-23

## MOLECULAR AND CELLULAR MECHANISMS OF AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION: EVIDENCES FROM OXYS RATS

Kozhevnikova O.S.<sup>1</sup>, Telegina D.V.<sup>1</sup>, Kolosova N.G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Russia, Novosibirsk, 630090, Lavrent'eva, 10  
oidopova@bionet.nsc.ru*

Age-related macular degeneration (AMD) is a degenerative disease of the retina and the leading cause of blindness in the elderly. A number of genetic and non-genetic factors influences on the pathogenesis of AMD, which remains poorly understood. A major obstacle for understanding of the pathophysiology of AMD is its complexity and a lack of an animal model that can adequately replicate key features of the human disease. Here we present data of the analysis of clinical, histological and molecular manifestations of AMD-like retinopathy in nontransgenic OXYS rats.

Using retinal RNA-seq data we found hundreds differentially expressed (DE) genes at the preclinical (20 d), the early (3 mo) and the advanced (18 mo) stages of retinopathy in OXYS rats.

Comparison of the RNA-Seq data from OXYS rats at different stages of retinopathy development demonstrated that each stage was characterized by a different set of DE genes and enrichment pathways. We showed that destructive alterations in RPE cells are a primary change during the development of retinopathy in OXYS rats. The cell death in the retina of OXYS rats is realized by apoptosis, necrosis and autophagy against the background of microglia phagocytic dysfunction and reactive gliosis. The estimation of age-related alterations of autophagy process in the retina has shown the increased levels of LC3A/B, Atg7, and Atg12 proteins in the OXYS retina at the age of 3 months and significantly decreased at the age of 18 months. Simultaneously with perturbation of the autophagic response, the necrosome subunits Ripk1 and Ripk3 were detected in the OXYS retina. Our study emphasizes the importance of autophagic pathway, imbalance in immune and inflammatory responses, aberrant migration of macrophages and microglia in the pathogenesis of AMD and supports the view that the genetic background has a profound impact on AMD development. Supported by the RSF18-75-00031.

## EPITRANSCRIPTOMIC CHANGES IN METHYLENATED RNA IN THE CULTURE OF THE NEURONS OF THE HIPPOCAMP AND CORTEX OF RATS.

Kolosov P.M., Novikov D.A. Uroshlev L.A., Bal N.V. Balaban P.M

*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS*

*kolosov@ihna.ru*

Methylation of adenosine at 6 position (m6A) is introduced, removed and read by specialized enzymes and performs various biological functions. The main part of m6A modifications is made by the METTL3-METTL14-WTAP complex, the removal of these labels is by the enzymes FTO and ALKBH5, as well as YTHDF / C, the translation initiation factor eIF3, FMRP, etc. [1,2]. The greatest amount of m6A among cells of various organs of mammals is found in the brain. It is assumed that the methylation of RNA in activated neurons accelerates the translation of certain transcripts important for the formation of a memory trace in the network of neurons [3-5]. In this work, RNA methylation profiles were measured in cultures of neurons from the hippocampus and rat cortex after treatment with picrotoxin. Analysis of the sequencing results revealed the methylation of the RNA of many genes. Among them are genes important for plasticity and immediate early genes, npas4, prkcz, genes of GABA receptor subunits, m6A systems, tRNA, histones, ncRNAs, etc. All 100 transcripts of genes with the most increased transcription level) undergo methylation. Exposure to picrotoxin appears to alter the methylation profile, since the methylation of various transcripts, and 31 out of 100 decreased in the pool of methylated RNA, despite the fact that their transcription level should increase. Analysis of the localization of m6A tags showed that about 47% of the sequences fell on the intergenic region of the genome, 23% on introns and 22% on UTR.

This work was supported by the Program of Russian Academy of Sciences

[1] Widagdo J., Anggono V. The m6A - epitranscript in neurobiology: from neurodevelopment to brain plasticity // *Journal of neurochemistry*. - 2018.

[2] Kadumuri R.V., Janga S.C. Epitranscript of Human Disease // *Trends in molecular medicine*. - 2018.

[3] Widagdo J. et al. Experience-dependent accumulation of N6-methyladenosine in the prefrontal cortex is associated with memory processes in mice // *Journal of Neuroscience*. - 2016. - T. 36. - №. 25. - p. 6771-6777.

[4] Wang X. et al. N 6-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency // *Cell*. - 2015. - V. 161. - №. 6. - p. 1388-1399.

[5] Merkurjev D. et al. Synaptic N 6-methyladenosine (m 6 A) epitranscriptome reveals functional partitioning of localized transcripts // *Nature neuroscience*. - 2018. - p. 1.

## АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ, ВЫБРАННЫХ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ, С КОГНИТИВНЫМИ ПАРАМЕТРАМИ ПОЖИЛЫХ ЛЮДЕЙ

Марусин А.В.<sup>1</sup>, Бочарова А.В.<sup>1</sup>, Вагайцева К.В.<sup>1</sup>, Макеева О.А.<sup>2</sup>, Маркова В.В.<sup>2</sup>, Минайчева Л.И.<sup>1</sup>, Жукова И.А., Жукова Н.Г. Степанов В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» НИИ медицинской генетики, РФ, Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10; <sup>2</sup>Центр клинических исследований «Неббиоло», РФ, Томск, пер. Островского, 23

[andrey.marusin@medgenetics.ru](mailto:andrey.marusin@medgenetics.ru)

Поздние этапы жизни человека связаны с нарушением когнитивных функций. При этом необходимо понимание особенностей, позволяющих отличить когнитивный упадок, обусловленный естественным процессом старения, от когнитивной дисфункции, вызываемой нейрокогнитивными расстройствами. Недементные когнитивные нарушения представляют собой полиэтиологический синдром, на формирование которого влияет генетическая изменчивость. Для диагностики недементных когнитивных нарушений используется достаточно чувствительный нейропсихологический тест – Монреальская когнитивная шкала (Montreal Cognitive Assessment, MoCA).

Целью настоящего исследования был подтверждающий поиск ассоциаций, выявленных в результате полноэкзомного ассоциативного исследования (exome-wide association study, EWAS) по дизайну случай – контроль 46 и 40 образцов с высокими (суммарный балл 26 и выше) и низкими (17 и менее) значениями MoCA теста, на расширенной выборке русских пожилых людей.

Исследование выполнено на группе из 708 пожилых людей (181 мужчина и 527 женщин), у которых проведена оценка когнитивного статуса с помощью батареи тестов MoCA. Анализ ассоциаций генетических маркеров с суммарным результатом теста MoCA выполнен методом множественной линейной регрессии (GLM) и с использованием непараметрических тестов (тест Краскелла-Уоллиса, медианный тест). В качестве зависимой переменной использовано суммарное значение баллов MoCA-теста, а в качестве независимых качественных и количественных переменных: пол, однонуклеотидный полиморфизм (SNP), возраст, индекс массы тела (ИМТ). Впервые установлена взаимосвязь снижения когнитивных функций в пожилом возрасте с генетической вариабельностью rs4905757 (C14orf177), rs6051449 (VPS16) и rs730819 (PTPRA/VPS16). Данные об ассоциации суммарного балла теста MoCA с изменчивостью rs113648411 (MYO16), rs3802824 (KIRREL3), rs429358 (APOE) и rs599255 (FARP1) согласуются с литературными данными связи этих генов с нейродегенеративными и психическими заболеваниями.

Таким образом, результаты исследования расширяют представления о составе и роли наследственной компоненты в когнитивных процессах. Полученные данные могут служить основой для разработки методов ранней диагностики подверженности к нейродегенеративным заболеваниям, поиска новых лекарственных мишеней для терапии БА с поздним проявлением и других форм деменций.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 16-14-00020).

## ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНА *GCLC* НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ, СТАРЕНИЕ И ТРАНСКРИПТОМ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Прошкина Е.Н.<sup>1</sup>, Шапошников М.В.<sup>1</sup>, Белый А.А.<sup>1</sup>, Гуватова З.Г.<sup>2</sup>, Жикривецкая С.О.<sup>2</sup>, Лашманова Е.А.<sup>3</sup>, Коваль Л.А.<sup>1,4</sup>, Садритдинова А.Ф.<sup>2</sup>, Снежкина А.В.<sup>2</sup>, Краснов Г.С.<sup>2</sup>, Кудрявцева А.В.<sup>2</sup>, Москалев А.А.<sup>1-4</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, Россия, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28, 167982; <sup>2</sup> Институт молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта Российской академии наук, Россия, Москва, ул. Вавилова, 32, 119991; <sup>3</sup> Московский физико-технический институт (государственный университет), Россия, Долгопрудный, Институтский пер., 9, 141701; <sup>4</sup>Сыктывкарский государственный университет имени Питирима Сорокина, Россия, Сыктывкар, Октябрьский пр., 55б 167001  
[kateplus@mail.ru](mailto:kateplus@mail.ru)

Одним из возможных способов замедления старения и увеличения продолжительность жизни является стимуляция систем клеточной защиты. Ранее W.C. Orr с коллегами показал геропротекторную роль генов, кодирующих каталитическую и регуляторную субъединицы (*Gclc* и *Gclm*) глутамат цистеин лигазы, катализатора синтеза глутатиона *de novo* [1]. В нашей работе проведено комплексное исследование влияния сверхэкспрессии гена *Gclc* в нервной системе дрозофил на продолжительность жизни, стрессоустойчивость, возраст-зависимые физиологические показатели и циркадные ритмы. Нейрон-специфическая сверхактивация *Gclc* увеличила продолжительность жизни самцов и самок, а также повысила их устойчивость к окислительному, протеотоксическому и осмотическому стрессу. Данный эффект не сопровождался снижением плодовитости. Более того, повышенная экспрессия гена *Gclc* предупреждала снижение двигательной активности и десинхронизацию циркадных ритмов с возрастом.

Для выявления молекулярно-генетических механизмов наблюдаемых эффектов мы оценили изменения транскриптомов в головах и тораксах дрозофил со сверхактивацией *Gclc* и без сверхэкспрессии. Они затронули сигнальные пути Jak-STAT, MAPK, FOXO, Notch, mTOR, TGFβ, трансляции, процессинга белков в эндоплазматической сети, протеосомальной деградации, метаболизма лекарств, метаболизма ксенобиотиков цитохромом P450, метаболизма глутатиона, метаболизма крахмала и сахарозы, гликолиза, окислительного фосфорилирования, апоптоза, регуляции циркадных ритмов, дифференциации нейронов, синаптической пластичности и трансмиссии и ряд других. Таким образом, сверхэкспрессия *Gclc* в нервной системе дрозофил вызывает транскриптомные изменения, связанные с замедлением старения.

Работа выполнена в рамках государственного задания по темам «Молекулярно-генетические механизмы старения, продолжительности жизни и стрессоустойчивости *Drosophila melanogaster*» № гос. регистрации АААА-А18-118011120004-5 и «Комбинация факторов различной природы (пониженная температура, отсутствие освещения, ограничительная диета и воздействие геропротектора) для максимального увеличения продолжительности жизни особей рода *Drosophila*» № 18-7-4-23, № гос. регистрации АААА-А18-118011120008-3.

[1]. Orr W.C. et al., Overexpression of glutamate-cysteine ligase extends life span in *Drosophila melanogaster*. // 2005, J. Biol. Chem., V.280, №45, P.37331-37338.

## CALCIUM HYPOTHESIS OF ALZHEIMER'S DISEASE: PRO ET CONTRA AND NEW DISCOVERIES

Ryazantseva M.A.<sup>1,2</sup>, Skobeleva K.V.<sup>2</sup>, Kaznacheyeva E.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Helsinki, Finland, Helsinki, Viikinkaari 1; <sup>2</sup>Institute of Cytology RAS, Russia, St. Petersburg, Tikhoretskiy ave 4

[mariaandreevna@gmail.com](mailto:mariaandreevna@gmail.com)

Alzheimer's disease (AD) is a chronic neurodegenerative disorder that affects millions of people worldwide. The disease mechanisms are still illusive despite a century of the studies and therefore there is no effective treatment. The four genes have been proved to be associated with AD: *APP*, *PSEN1*, *PSEN2* (mutations for autosomal-dominant type of familial AD) and *APOE* (risk gene). AD can be subdivided into early-onset AD (manifestation < 65 years) and late-onset AD (onset ≥ 65 years). The familial AD is usually early-onset when the sporadic type of disease occurs predominantly in older adults. The sporadic type of disease risks is believed to be genetic as well with many genes usually involved. Many genome-wide association studies in AD have confirmed *APOEε4* as the most significant risk factor. In addition, a large number of genetic risk factors for AD have been implicated in these GWASs. Consistent and robust associations between calcium signalling pathway genes and human episodic memory performance in AD patients have been demonstrated recently. This data supports the hypothesis on Alzheimer's disease pathogenesis introduced by Prof. Khachaturian in late 80s of 20<sup>th</sup> century. The "Calcium Hypothesis" of Alzheimer's disease suggest that disruption in the calcium signalling regulation leads to neurodegeneration. The calcium signalling dysregulation has been repeatedly observed in cell cultures and animal models of AD. Our results obtained with *Drosophila* and mouse models and human cells model support the Hypothesis and propose a role for calcium sensors STIM in dysregulation of voltage-gated and store-operated calcium channels in AD.

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ДНК-МЕТИЛТРАНСФЕРАЗ И ДЕАЦЕТИЛАЗ ГИСТОНОВ В ОТВЕТ НА ОСТРЫЙ СТРЕСС

Сухарева Е.В.<sup>1,2</sup>, Егорова К.В.<sup>1,2</sup>, Калинина Т.С.<sup>1,2</sup>, Дыгало Н.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, пр.ак.Лаврентьева,10; <sup>2</sup>ФГАОУВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 2  
[evsukhareva@mail.ru](mailto:evsukhareva@mail.ru)

Стресс является индуктором изменения экспрессии множества генов, а также фактором, влияющим на регуляторные молекулярные процессы, в том числе и эпигенетические. При этом важно отметить, что многочисленные воздействия окружающей среды оказывают влияние на изменения генома как в краткосрочном, так и отдаленном периоде. Одним из механизмов таких явлений может быть вызванное средовыми факторами перепрограммирование эпигенетических регуляторов в головном мозге, прежде всего, ферментов, осуществляющих метилирование ДНК (ДНК-метилтрансферазы) и модификации гистонов (деацетилазы гистонов). Такие изменения в механизмах эпигенетической регуляции в дальнейшем продолжают использоваться клетками, а степень их проявления зависит от возраста и условий жизни. Таким образом, целью работы являлось установить уровни экспрессии генов ферментов, участвующих в модификациях ДНК и гистонов, в головном мозге после острого стресса в разные возрастные интервалы. Уровни мРНК генов ферментов ДНК-метилтрансфераз (*dnmt1*, *dnmt3a*, *dnmt3b*) и деацетилаз гистонов (*hdac1*, *hdac2*) определяли методом ПЦР в реальном времени в образцах ствола, коры и гиппокампа ювенильных (25 день жизни) и взрослых (65 день жизни) крыс линии Вистар после острого стресса, каким является тест вынужденного плавания. Острое стрессорное воздействие оказывает преимущественное влияние на экспрессию исследуемых генов в передних областях мозга – гиппокампе и коре. При этом в гиппокампе взрослых животных изменения экспрессии всех генов имеют однонаправленный характер - уровни мРНК большинства ферментов увеличиваются в ответ на стрессорное воздействие. Именно такое направление изменений экспрессии данных генов характерно для усиления процесса метилирования, что репрессирует транскрипцию регулируемых генов. В стволе мозга профили экспрессии генов ферментов ДНК-метилтрансфераз остаются неизменными после эпизода острого стресса у животных обеих возрастных групп, однако уровни мРНК деацетилаз гистонов снижаются после стресса у взрослых животных, что может говорить о большей чувствительности этой системы к изменениям условий среды. Наблюдаемые изменения уровней мРНК генов ДНК-метилтрансфераз и деацетилаз гистонов в результате действия стресса, возможно, являются отражением пластических перестроек, необходимых для противодействия стрессорным факторам, что подтверждается максимальными изменениями в гиппокампе.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-315-00118.

## ТРАНСЭТНИЧЕСКИЙ МУЛЬТИЛОКУСНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Тимашева Я.Р.<sup>1,2</sup>, Насибуллин Т.Р.<sup>1</sup>, Туктарова И.А.<sup>1</sup>, Эрдман В.В.<sup>1</sup>, Заплахова О.В.<sup>3</sup>,  
Бахтиярова К.З.<sup>2</sup>, Мустафина О.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра  
Российской академии наук, Россия, Уфа, пр. Октября, 71; <sup>2</sup>Башкирский государственный  
медицинский университет, Россия, Уфа, ул. Ленина, 3; <sup>3</sup>Республиканская клиническая  
больница им. Г.Г. Куватова, Россия, Уфа, ул. Достоевского, 132  
[ianina\\_t@mail.ru](mailto:ianina_t@mail.ru)

Согласно современной концепции рассеянного склероза (РС), в основе его развития лежит полигенная многофакторная модель взаимодействий множества генетических вариантов и факторов внешней среды [1]. Цель исследования состояла в проведении анализа ассоциаций с РС маркеров заболевания, выявленных в результате выполнения полногеномных ассоциативных исследований, в выборке жителей Республики Башкортостан, русских, татар и башкир (N=1620), а также изучении мультилокусных взаимодействий генов.

Группа пациентов (n=641) была отобрана из числа лиц, состоящих на учете в Республиканском центре РС, диагноз устанавливался согласно критериям МакДональд (2010). Контрольная группа (n=979) соответствовала группе больных по возрасту и полу и состояла из практически здоровых лиц без признаков нейродегенеративных и иных хронических заболеваний. Генотипирование проводили с использованием сайт-специфичной ПЦР. Ассоциации полиморфных вариантов с РС анализировали при помощи программы PLINK методом логистической регрессии с применением аддитивной модели. Анализ ассоциаций сочетаний аллельных вариантов с РС проводили с помощью программы APSampler 3.6.0 [2]. Для исключения ошибки первого рода вводили поправку Бонферрони. Различия считали значимыми при  $P_{Bonf} < 0.05$ .

В общей группе исследования мы выявили ассоциацию с РС аллельных вариантов гена альфа-цепи рецептора интерлейкина-7 *IL7R* rs10624573 I (OR=0.79,  $P_{Bonf}=0.018$ ) и rs1494558 T (OR=1.44,  $P_{Bonf}=2.33 \times 10^{-4}$ ). При дальнейшем анализе с учетом этнической принадлежности у русских сохранялась ассоциация с РС аллельного варианта *IL7R* rs1494558 T (OR=1.49,  $P_{Bonf}=0.005$ ), а у башкир - аллельного варианта *IL7R* rs10624573 I (OR=0.56,  $P_{Bonf}=0.02$ ). Используя мультилокусный подход, мы обнаружили семь паттернов, значимо ассоциированных с РС, в состав которых наиболее часто входили аллельные варианты *IL7R* rs1494558 и *IL7R* rs10624573.

В результате проведенного исследования нами впервые выявлена ассоциация с РС аллельного варианта rs10624573 гена *IL7R* и подтверждена ассоциация с РС аллельного варианта rs1494558 гена *IL7R*, а также идентифицированы генетические паттерны предрасположенности к РС.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-44-020735.

[1]. Canto E., Oksenberg J.R. Multiple sclerosis genetics. // 2018, *Mult. Scler. J.*, V.24, P. 75-79.

[2]. Favorov A.V., et al. A Markov chain Monte Carlo technique for identification of combinations of allelic variants underlying complex diseases in humans. // 2005, *Genetics*, V.171, P. 2113-21.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ СУДОРОЖНЫХ СОСТОЯНИЙ НА ГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЯХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

И.Б. Федотова, Н.М. Сурина, И.И. Полетаева

*Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова,*

*lzglzg@yandex.ru*

Существование генетических линий грызунов, предрасположенных к аудиогенной эпилепсии (АЭ) – основа для исследования роли генотипа в их реализации.

Практически 100% крыс инбредной линии Крушинского-Молодкиной (КМ) обнаруживают высокую интенсивность АЭ при установленной полигенной основе этого признака. Судороги в ответ на сильный звук устойчиво воспроизводятся на одном и том же животном (что является преимуществом по сравнению с химически вызванными судорогами).

Ранее картину развития АЭ у крыс КМ сопоставляли с реакцией на звук крыс Вистар, исходной популяции для селекции крыс КМ. С конца 1990-х годов было положено начало селекции двух новых линий крыс. На основе гибридов F2 КМ x Вистар был начат отбор на отсутствие судорожного приступа в ответ на звук (линия «0»), и на высокую интенсивность АЭ (линия «4»). В поколениях F 31-35 доли крыс линии «0», не обнаруживающих АЭ (после троекратной экспозиции действию звука), варьировали с 38.9% до 42.1%, тогда как доля животных, обнаруживших максимальную интенсивность припадков (линия 4), в F 38-42 составила почти 100%. Сохранение в линии «0» невысокой, но устойчивой доли животных, обнаруживающих АЭ, также служит доказательством полигенной природы этого признака. Введение подпороговых доз коразола вызывало генерализованные судорожные припадки у крыс КМ, но дало лишь небольшую долю парциальных судорог у крыс «0», что рассматривается как свидетельство общей, не только вызванной звуком, повышенной судорожной готовности линии КМ (показано впервые).

Модуляция аудиогенных судорог крыс с помощью метил-обогащенной диеты в период эмбрионального и раннего постнатального развития вызвала снижение интенсивности судорог у крыс и линии «0», и линии «4», которое было более четким у крыс линии «0».

У крыс КМ склонность к депрессии и знаки тревожности были выше, чем у Вистар (что свидетельствовало о коморбидности этих состояний), тогда как линии «4» и «0» (также контрастные по АЭ и близкие по генетическому фону крысам КМ) такой контрастности не обнаружили, что ещё раз подтверждает сложность генетического определения АЭ.

Таким образом, исследование физиолого-генетических основ АЭ – это один из путей изучения механизма эпилептогенеза.

При выполнении работы авторы руководствовались правилами Декларации ЕС 2010 (2010/63/EU). Работа частично поддержана РФФИ, гранты N 15-04-01732 и № 18-015-00173\18 и темой «Нейробиологические основы поведения животных с регистр. № НИОКТР АААА-А16-116021660055-1.»

## MOLECULAR MECHANISMS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER E(z)* MUTANTS LONGEVITY

Shaposhnikov M.V.<sup>1</sup>, Zemskaya N.V.<sup>1</sup>, Koval L.A.<sup>1</sup>, Schegoleva E.V.<sup>1</sup>, Guvatova Z.G.<sup>2</sup>,  
Krasnov G.S.<sup>2</sup>, Solovev I.A.<sup>1</sup>, Sheptyakov M.A.<sup>3</sup>, Kudryavtseva A.V.<sup>2</sup>, Moskalev A.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biology of Komi Science Center of Ural Branch of RAS, Russia, Syktyvkar, 28  
Kommunisticheskaya st.;* <sup>2</sup>*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,  
Russia, Moscow, 32 Vavilov st.;* <sup>3</sup>*Moscow Institute of physics and technology, Russia, Dolgoprudny,  
9 Institutskiy per.*

[shaposhnikov@ib.komisc.ru](mailto:shaposhnikov@ib.komisc.ru)

The heterozygous mutation in histone methyltransferase gene *E(z)* is known to increase lifespan and stress resistance in *Drosophila melanogaster*. However, the molecular mechanisms of *E(z)* effects have not been revealed. Here, we analyzed age-dependent changes in genome-wide transcriptome that associated with the lifespan extension, fecundity enhancement and increase of stress resistance (to hyperthermia, oxidative stress and endoplasmic reticulum stress) in *E(z)* heterozygous mutants. We found changes in the expression level of 102 genes ( $p < 0.05$ ). The genes of the family showed sex-specific differences in expression. Several of differentially expressed genes ( $|\text{LogFC}| > 2$ ,  $\text{FDR} < 0.05$ ) have been already linked to longevity (Turandot family genes and antimicrobial peptides), but most have never been described before as pro-longevity ones, including upregulated: *Unc-115b*, *p24-2*, *tobi*, *Ir76a*, *CG13313*, *CG3397*, *CG4098*, *CG34031*, *CG12224*, *CG13460* and downregulated: *CG32379*, *CR44138*, *CG42857*.

**Acknowledgements:** This work was funded by the Russian Science Foundation grant N 14–50–00060.

## ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ ГЕНОВ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Щеголева Е.В.<sup>1</sup>, Соловьев И.А.<sup>2</sup>, Москалев А.А.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Россия, Сыктывкар, ул. Коммунистическая 28; <sup>2</sup> ФГБОУ ВПО Сыктывкарский государственный университет Россия, Сыктывкар, Октябрьский проспект 55; <sup>3</sup> ФГАОУ ВПО Московский физико-технологический институт, Россия, Долгопрудный, Институтский переулок 9  
[dobraya\\_09@bk.ru](mailto:dobraya_09@bk.ru)

Старение организма сопровождается медленным угасанием транскрипционной активности генома. Не являются исключением и гены циркадных ритмов, активность которых также изменяется в процессе старения. Большинство генов циркадных ритмов человека являются эволюционно консервативными и имеют ортологи у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. С помощью метода ОТ-ПЦР нами выявлено снижение транскрипционной активности генов регуляции циркадных ритмов (*cryptochrome*, *period*, *cycle*, *timeless*) у старых особей линии *w<sup>1118</sup>* *Drosophila melanogaster* по сравнению с особями среднего возраста. В тоже время мы установили, что мутация гена *cryptochrome* приводит к снижению устойчивости *Drosophila melanogaster* к голоданию на 33-35 % ( $p < 0.001$ ) и сокращению продолжительности жизни у самцов на 16-20 % ( $p < 0.001$ ). Мы предположили, что индукция экспрессии генов циркадных ритмов (*cryptochrome*, *period*, *Clock*, *cycle*, *timeless*) у особей *Drosophila melanogaster* компенсирует возраст-зависимое снижение активности исследуемых генов, увеличит продолжительность жизни и повысит устойчивость к стресс-факторам. Мы обнаружили, что сверхэкспрессия генов *cryptochrome* и *cycle* в нервной системе у самцов увеличила устойчивость к гипертермии, голоданию и действию прооксиданта параквата. У самок сверхактивация исследуемых генов циркадных ритмов в нервной системе повысила устойчивость к действию индуктора свободных радикалов, но снизила резистентность к гипертермии и голоданию. Установлено, что сверхактивация генов *cryptochrome* и *cycle* в жировом теле у особей, содержащихся на низкокалорийной среде, вызвала увеличение медианной продолжительности жизни *Drosophila melanogaster* на 20.8 % и 8.7 % ( $p < 0.001$ ), соответственно. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что при кондиционной сверхэкспрессии исследуемых генов в мышцах и жировом теле дрозофилы, ограничительная диета смягчает ее отрицательные эффекты на продолжительность жизни, связанные с нарушением работы генов регуляции циркадных ритмов.

**Благодарности:** Работа поддержана грантом РФФИ № 18-315-00086 и темой НИР АААА-А18-118011120004-5.

## ДОЛГОЛЕТИЕ, ИММУНОСТАРЕНИЕ И АУТОИМУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ: ПОИСК ВОЗМОЖНЫХ ОБЩИХ МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРЕДИКТОРОВ НА ПРИМЕРЕ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ

Эрдман В.В.<sup>1</sup>, Насибуллин Т.Р.<sup>1</sup>, Гуктарова И.А.<sup>1</sup>, Тимашева Я.Р.<sup>1</sup>, Заплахова О.В.<sup>2</sup>,  
Бахтиярова К.З.<sup>3</sup>, Мустафина О.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра  
РАН, г. Уфа, проспект Октября, 71

<sup>2</sup>Республиканская клиническая больница им. Г.Г. Куватова, г. Уфа, ул. Достоевского, 132

<sup>3</sup>Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, ул. Ленина, 3  
[danivera@mail.ru](mailto:danivera@mail.ru)

Развитие хронического воспаления с возрастом способствует увеличению числа случаев инфекционных и аутоиммунных процессов и возраст-ассоциированных заболеваний. С другой стороны, существует целый ряд болезней молодого возраста, вызванных патологиями в иммунной системе. Исследование молекулярно-генетических предикторов очевидных патологических процессов, по нашему мнению, может помочь в понимании природы старения и долголетия человека. Гены цитокиновой сети выступают в качестве возможных участников развития этиопатогенеза аутоиммунных, в том числе рассеянного склероза, и возрастзависимых заболеваний, а также рассматриваются как кандидатные в отношении старения и долголетия.

Цель работы заключалась в анализе ассоциаций полиморфных маркеров генов *IL6* (-572G>C, rs1800796), *IL10* (-627C>A, rs1800872), *IL12B* (-1159C>A rs3212227) и *TNFA* (-308G>A, rs1800629) с рассеянным склерозом, старением и долголетием.

Выборка, состоящая из 1885 неродственных индивидов, татар, жителей Республики Башкортостан в возрасте от 15 до 109 лет, подразделена на группы больных рассеянным склерозом (РС), здоровых лиц, соответствующих группе больных по возрасту (К), лиц пожилого (П) и старческого возраста (С), а также долгожителей (Д). Группы К, П, С и Д представлены лицами без признаков РС и других неврологических заболеваний. Образцы ДНК выделены из лимфоцитов периферической венозной крови. Полиморфизм генов анализировался методом ПЦР-ПДРФ. Группы сравнивались попарно с помощью точного двустороннего критерия Фишера.

Частота аллеля *TNFA* А, ассоциированного с усилением экспрессии провоспалительного цитокина *TNFA* и с риском развития ряда хронических заболеваний, в группах РС и С статистически значимо выше, чем в группе К (15,8% и 15,6% против 11,5%, P<0,05). Аллель *IL6* С, коррелирующий с повышением продукции провоспалительного ИЛ-6, встречается с меньшей частотой в группах РС, П, С и Д, по сравнению с группой К (12,7%, 10,2%, 12,9% и 10,2% против 16,8%, P<0,05). Что касается противовоспалительного цитокина ИЛ-10, частота аллеля *IL10* С, ассоциированного с повышенной экспрессией его продукта, снижается с возрастом (69,1%, 66,3% и 66,4% в группах П, С и Д против 73,4% в группе К, P<0,05).

Таким образом, предполагается участие провоспалительных цитокинов в развитии патологий иммунной системы, при этом старение можно рассматривать как болезнь.

Работа поддержана Грантами РФФИ № 17-44-020735\_р\_поволжье\_a и 19-54-40007\_Абх\_a.

**Симпозиум XX: Селекция и биотехнология микроорганизмов / Symposium  
XX: Biotechnology and breeding of microorganisms**

**РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И СПЕКТР МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *M. TUBERCULOSIS*, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ МНОЖЕСТВЕННУЮ  
ЛЕКАРСТВЕННУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ НА ТЕРРИТОРИИ  
РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ.**

Бережной С.А.

Южный федеральный университет, Россия, Ростов-на-Дону, ул. Большая Садовая, 105/42  
[serberezhnoy@sfedu.ru](mailto:serberezhnoy@sfedu.ru)

Рифампицин и изониазид антибактериальные препараты, действующие на активно размножающуюся популяцию микобактерий туберкулеза. В различных регионах частота встречаемости мутаций в генах определяющих лекарственную чувствительность к данным антибактериальным препаратам не однородна.

**Цель исследования:** изучить распространенность и спектр мутаций в генах *groV*, *katG* и *inhA* определяющих чувствительность к рифампицину и изониазиду в штаммах *M. tuberculosis*, циркулирующих на территории Ростовской области.

**Материалы и методы.** Исследованы 395 образцов ДНК *M. tuberculosis* от больных туберкулезом, мужчин - 302 (76,5%) и женщин - 93 (23,5%), в возрасте от 18 до 70 лет, жителей Ростовской области, пациенты находились на стационарном лечении в ГБУ РО «СТБ» в 2016-2017г. Для выделения ДНК возбудителей туберкулеза и определение их лекарственной чувствительности к рифампицину и изониазиду, а также изучение спектра генетических мутаций ДНК *M. tuberculosis* в диагностических образцах применяли наборы «Амплитуб-РВ» и «Амплитуб-МЛУ-РВ» (ООО «Синтол», Россия). PCR Real Time проводили с применением детектирующего амплификатора ДТ-прайм (ООО «ДНК-технология», Россия). **Результаты исследования.** Наличие мутаций не выявлено, лекарственная чувствительность сохранена для 121 (30,6%) штамма, выявлена монорезистентность к изониазиду 47 (11,9%), монорезистентность к рифампицину 6 (1,5%) от общего числа образцов. Зарегистрирована множественная лекарственная устойчивость у 221 (56%) *M. tuberculosis*. Частота встречаемости мутаций в гене *groV* определяющих лекарственную устойчивость к рифампицину: 531 кодон 211 (93%), 516 кодон 5 (2,2%), 526 кодон 4 (1,8%), 533 кодон 5 (2,2%), сочетанные мутации в двух кодонах 2 (0,8%). Частота встречаемости мутаций в гене *katG*, *inhA* определяющих лекарственную устойчивость к изониазиду: изолированная мутация гена *katG* в 315 кодоне 156 (58,2%), изолированная мутация в положении (-15) гена *inhA* 9 (3,4%), сочетанная мутация в гене *katG*, *inhA* 103 (38,4%).

**Выводы.** В Ростовской области установлен высокий уровень множественной лекарственной устойчивости *M. tuberculosis* - 56%. Определено, что среди штаммов устойчивых к рифампицину, высокий уровень мутации в 531 кодоне гена *groV* 93% случаев. Также определено, что среди штаммов устойчивых к изониазиду зарегистрирован, высокий уровень мутаций в 315 кодоне гена *katG* 58,2% случаев, кроме того зарегистрирован, высокий уровень сочетанной мутации гена *katG* совместно с мутацией в гене *inhA* 38,4% случаев.

## ВЛИЯНИЕ ГЕНА *VAC A HELICOBACTER PYLORI* НА КЛИНИЧЕСКИЕ ИСХОДЫ У ПАЦИЕНТОВ С ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ В ЯКУТИИ

Готовцев Н.Н.<sup>1,2</sup>, Барашков Н.А.<sup>1,2</sup>, Борисова Т.В.<sup>2</sup>, Пак М.В.<sup>2,3</sup>, Алексеева М.П.<sup>3</sup>,  
Иннокентьева Н.Н.<sup>1,3</sup>, Лоскутова К.С.<sup>2,3</sup>, Пшенникова В.Г.<sup>1,2</sup>, Рафаилов А.М.<sup>2</sup>,  
Леханова С.Н.<sup>1</sup>, Федорова С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> – Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Российская Федерация, Якутск; Адрес: 677010, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, Сергеляхское шоссе, д. 4.

<sup>2</sup> – Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова; Российская Федерация, Якутск; Адрес: 677013, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Кулаковского, д. 46.

<sup>3</sup> – Республиканская больница №1 – Национальный центр медицины, Российская Федерация, Якутск; Адрес: 677010, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, Сергеляхское шоссе, д. 4.

[Donzcrew@mail.ru](mailto:Donzcrew@mail.ru)

Ген *vacA* является важным фактором вирулентности, кодирующим вакуолизирующий цитотоксин, присутствующий во всех штаммах *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Существует значительная разница в вакуолизирующей деятельности штаммов *H. pylori* в связи с неоднородностью последовательностей в *m* и *s* областях гена *vacA*. Регион *m* имеет типы аллелей *m1* и *m2*, а регион *s* - *s1* или *s2* [1]. Штаммы, несущие мозаичную комбинацию гена *vacAs1m1* демонстрируют более высокие уровни цитотоксичной активности, чем штаммы *s1m2*, в то время как штаммы *s2m2* не секретируют данный цитотоксин. Влияние аллелей гена *vacA* на исходы гастродуоденальных заболеваний у пациентов в Якутии ранее не было изучено. Целью работы является исследование ассоциаций аллелей гена *vacA* с наличием эрозивных и хронических гастритов у пациентов в Якутии. В исследование были включены 147 пациентов (из 322 обследованных), у которых с помощью гистологического исследования было выявлено наличие *H. pylori*. Пациенты были подразделены на две группы: хронический гастрит (n=61) и эрозивный гастрит (n=86). Средний возраст индивидов в общей выборке составил 26,6 лет. Аллель *vacAs1m1* был обнаружен у 28 из 37 в выборке пациентов с эрозивным гастритом (75.6%), в то время как в выборке пациентов с хроническим гастритом аллель *vacAs1m1* был выявлен только у 9 из 37 пациентов (24.3%) ( $p < 0.05$ ). С остальными аллельными вариантами гена *vacA* (*s1m2*, *s2m1*, *s2m2*) статистически значимых отличий в клинических исходах у пациентов с гастродуоденальными заболеваниями не было обнаружено. Высокий показатель встречаемости аллеля *vacAs1m1* у пациентов с эрозивным гастритом в Якутии подтверждает гипотезу о том, что аллели *vacAs1m1* являются наиболее цитотоксичными и чаще встречаются у пациентов с более тяжелыми формами гастрита [2].

**Благодарности:** Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки РФ №6.1766.2017.ПЧ, проекта СВФУ им. М.К. Аммосова и ЯНЦ КМП (БРК: 0556-2017-0003), а также при поддержке РФФИ (№18-05-60035\_Арктика).

Ссылки:

- [1]. Atherton J, Cao P, Peek R, Tumurru M, Blaser M, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of peptic *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. // 1995, J Biol Chem.; 270, P. 17771–17777;
- [2]. Nogueira C, Figueiredo C, Carneiro F, et al., *Helicobacter pylori* genotypes may determine gastric histopathology. // 2001, Am J Pathol.; 158 (2), P. 647-654.

## СИСТЕМА РЕСТРИКЦИИ IV ТИПА – КЛЮЧЕВОЙ РЕГУЛЯТОР ГОРИЗОНТАЛЬНОГО ПЕРЕНОСА ДНК У БАКТЕРИЙ *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* 3-2

Дюбо Ю.В.<sup>1</sup>, Николайчик Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Беларусь, Минск, пр. Независимости 4  
[yuliyadiubo@gmail.com](mailto:yuliyadiubo@gmail.com)

Горизонтальный перенос ДНК – основной механизм изменений генома прокариот, позволяющий им быстро адаптироваться к меняющимся условиям и осваивать новые экологические ниши. Однако слишком высокая эффективность процессов горизонтального переноса и их эксплуатация вирусами, плазмидами, IS-элементами приводят к необходимости контроля этих процессов бактериями. Основными способами контроля бактериями количества попадающей в клетку чужеродной ДНК являются системы рестрикции-модификации и CRISPR-CAS. Набор таких контролируемых систем сильно различается у разных штаммов бактерий даже одного вида: система CRISPR-CAS присутствует не всегда, а системы рестрикции-модификации часто принадлежат к разным типам и присутствуют в разном количестве (от одной до 3-4).

Штаммы нашей коллекции пектобактерий отличались по своей устойчивости к проникновению чужеродной ДНК. Наиболее устойчивым оказался штамм *Pectobacterium carotovorum* 3-2. В связи с околонулевыми частотами переноса плазмид в клетки этого штамма нам удалось отобрать мутанты с резко возросшими частотами восприятия чужеродной ДНК, а полная геномная последовательность этого штамма позволила идентифицировать в качестве причины одну из мутаций - инсерцию элемента ISPcc2 в пределах оперона системы рестрикции.

В состав оперона входят четыре гена, кодирующие транскрипционный регулятор, метилтрансферазу *dcm*-типа и две субъединицы рестриктазы: NTFазную и собственно эндонуклеазную. Поиск гомологичных белков показал, что эта рестриктаза может принадлежать к IV типу систем рестрикции, специфичных к метилированной ДНК. Косвенным свидетельством в пользу этого является отсутствие у штамма 3-2 и у других штаммов с похожими системами рестрикции широко распространенных среди пектобактерий систем рестрикции-модификации I типа, метилирующих ДНК по остаткам аденозина. Использование при переносе плазмид в клетки *P. carotovorum* 3-2 в качестве донорных штаммов *E. coli* с разным набором метилаз подтвердило специфичность этой системы рестрикции к метилированной по остаткам аденозина ДНК.

Единственная дополнительная рестриктаза (II типа) штамма 3-2 не оказывает заметного влияния на перенос чужеродной ДНК в клетки *P. carotovorum* 3-2, поэтому полученный мутант штамма 3-2 по системе рестрикции IV типа оказался удобным для генетических экспериментов, связанных с введением ДНК в клетки: комплементационных тестов, инсерционного мутагенеза и др. В настоящее время мутантный штамм активно используется при исследовании вирулентных свойств *P. carotovorum*.

## PhoP – КЛЮЧЕВОЙ РЕГУЛЯТОР ВИРУЛЕНТНЫХ СВОЙСТВ ФИТОПАТОГЕНА *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM*

Кравченко У.А.<sup>1</sup>, Гоголева Н.Е.<sup>2</sup>, Гоголев Ю.В.<sup>2</sup>, Николайчик Е.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Беларусь, Минск, пр. Независимости, 4;  
[ulyaulyami@gmail.com](mailto:ulyaulyami@gmail.com)

Двухкомпонентные системы передачи сигналов являются основными посредниками в коммуникации между микроорганизмами и окружающей средой и состоят из сенсорной гистидинкиназы и регулятора ответа – чаще всего транскрипционного фактора, который регулируется за счет фосфорилирования сенсорной киназой.

Двухкомпонентная система PhoQ/PhoP хорошо изучена у *Salmonella* spp., но практически не охарактеризована у фитопатогенной энтеробактерии *Pectobacterium carotovorum*. Наш интерес к ней был вызван анализом потенциальных сайтов связывания PhoP с помощью версии 2.0 программы SigoID [1]. Этот анализ выявил более 30 потенциальных сайтов связывания PhoP в геноме *P. carotovorum* штамма 3-2, в том числе перед генами ключевых факторов вирулентности: полигалактуроназы *pehA*, пектатлиаз *pelA* и *pelB*. Особенно интересен сайт связывания PhoP перед геном ацилгомосеринлактонсинтазы *expI*, который предполагает возможность контроля системы кворум-сенсинга с помощью PhoP.

К настоящему моменту сконструирован и частично охарактеризован инсерционный *phoP*-мутант. С помощью репортерных конструкций и данных RNA-seq уточнен состав PhoP-регулона. Продемонстрировано снижение как пектолитической активности, так и выработки ацилгомосеринлактона у *phoP*-мутантного штамма, а также зарегистрировано изменение вирулентных свойств в экспериментах по заражению растений картофеля. Полученные данные могут быть как прямым следствием инактивации *phoP*, так и опосредованным результатом снижения выработки ацилгомосеринлактона и репрессии синтеза вторичных метаболитов через глобальный регулятор RsmA. Ведется работа по конструированию двойных мутантов *phoP* в комбинации с *expI* и *rsmA*, а также поиск лигандов, участвующих в активации двухкомпонентной системы PhoQ/PhoP.

В докладе будет представлена модель перекрестной регуляции факторов вирулентности пектобактерий с помощью систем PhoQ/PhoP и ExpI/ExpR.

[1]. Nikolaichik Y., Damienikan A.U. SigoID: a user-friendly tool for improving bacterial genome annotation through analysis of transcription control signals. // 2016, PeerJ, V.4, P.e2056

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ-РФФИ.

## ALTERNATIVE PATHWAYS OF L-ISOLEUCINE BIOSYNTHESIS IN *E. COLI* K-12

Kramor R.V., Mamontov V.A., Plekhanova N.S., Stoynova N.V.

«Ajinomoto-Genetika» Research Institute, Moscow, Russia

Ruslan\_Kramor@agri.ru

Keywords: L-isoleucine, alternative pathways, branched-chain amino acids, *Escherichia coli*

The biosynthesis of L-isoleucine in cells is carried out in different ways; in the main, their precursor is 2-ketobutyrate, which is in turn formed from L-threonine, or from L-glutamate, pyruvate or propionate. In addition, some anaerobic bacteria can carboxylate 2-methylbutyrate to form 2-keto-3-methylvalerate, the immediate precursor of L-isoleucine. In *Escherichia coli*, the pathway of biosynthesis of L-isoleucine from 2-ketobutyrate includes five reactions, four of which are common for all branched amino acids. For this reason the production of L-isoleucine in pure form by microbial synthesis is complicated because results in the accumulation of other branched-chain amino acids as by-products. The search for possible alternative pathways of the biosynthesis of L-isoleucine in *E. coli* was carried out on the basis of genetic mapping of mutations suppressing the deletion of the threonine deaminase genes that catalyze the formation of 2-ketobutyrate from threonine. Mutations suppressing these deletions are found in genes encoding pyridoxal phosphate-dependent enzymes, like the threonine deaminase genes. Two mutations were found in the gene of threonine synthase; they affected the conservative residues near the active center of the enzyme involved in direct interaction with the substrate. The remaining mutations were found in genes encoding L-methionine and L-cysteine biosynthesis enzymes. Thus, six mutations were found in the gene coding for cystathionine  $\beta$ -lyase; among them were mutations that are responsible for interaction with the substrate, and mutations that presumably affect the oligomeric structure of the enzyme.

## ЭКЗОТОКСИНЫ ДРОЖЖЕЙ В ЭПОХУ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Музаев Д.М. , Самбук Е.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург,  
Университетская наб., 7-9

[dmmuzaev@yandex.ru](mailto:dmmuzaev@yandex.ru)

Изучение феномена киллерной активности у модельного организма - дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, привело к существенному прогрессу во многих областях биологии, обеспечив важную информацию о механизмах взаимодействия вируса и клетки дрожжей, системы поддержания вируса в отдельной клетке и в популяции, решения вопросов эволюции и ко-эволюции биологических систем. Подробный анализ их структуры и синтеза существенно расширил представления о посттрансляционной модификации эукариотических белков в процессе секреции. Перспективным направлением использования киллер-токсинов дрожжей оказалось создание на их основе новых лекарственных препаратов для лечения грибковых заболеваний. Кроме того, штаммы-киллеры и киллер-токсины дрожжей нашли применение в пищевой промышленности, где они служат эффективным средством борьбы с патогенными микроорганизмами в процессе виноделия, пивоварения и хлебопечения. Учитывая, что большинство известных на сегодняшний день видов дрожжей, обладающих киллерной активностью, подробно не исследованы, существует вероятность обнаружения новых свойств и областей применения киллер-токсинов дрожжей, в частности в биотехнологии. Использование киллер феномена позволит создать новые микоцидные препараты, и использовать киллер-феномен для целенаправленной селекции нужных соединений и штаммов микроорганизмов. На сегодняшний день для селекции дрожжевых трансформантов в основном используются маркеры ауксотрофности или гены устойчивости к антибиотикам.

Целью данной работы является разработка селективных систем на основе киллер-токсинов. Последовательности, кодирующие фрагменты киллер-токсина, были встроены под контроль регулируемых промоторов. Внесение подобных экспрессионных кассет в клетки штаммов дрожжей разных видов приводит к появлению у них условной летальности: данные штаммы гибнут в условиях, при которых происходит синтез киллер-токсина. Селекцию трансформантов обеспечивает удаление кассеты, кодирующей киллер-токсин, или внесение кассеты, обеспечивающей устойчивость к его действию. Данные селективные системы сочетают в себе основные преимущества других систем: применение простых сред, без необходимости добавления дорогостоящих антибиотиков, в сочетании с упрощённой методикой конструирования экспрессионных кассет и получения трансформантов.

Благодарности: работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-04-01057.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ ОКСИГЕНАЗ БАКТЕРИЙ - ДЕСТРУКТОРОВ ХЛОРАРОМАТИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ

Старииков С.Н.<sup>1</sup>, Хафизова Л.М.<sup>1</sup>, Сагитова А.И.<sup>1,4</sup>, Якшидавлетова Л. И.<sup>2</sup>, Чижкова А.П.<sup>3</sup>, Галаютдинова Ю. А.<sup>3</sup>, Маркушева Т.В.<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Уфимский институт биологии УФИЦ РАН, Россия, 450054, г. Уфа, проспект Октября, 69;

<sup>2</sup>Башкирский государственный университет, Россия, 450076, г. Уфа, улица З. Валиди, 32;

<sup>3</sup>Башкирский государственный педагогический университет им. М.Акмиллы, Россия, 450008 г.Уфа, ул. Октябрьской революции, 3-а; <sup>4</sup>Учебно-научный центр БГПУ им. М. Акмиллы и

УИБ УФИЦ РАН, Россия, 450008, г.Уфа, ул. Октябрьской революции, 3-а

[hafizova1994@bk.ru](mailto:hafizova1994@bk.ru)

Известно, что микроорганизмы, обладающие специальными системами акцептирования и превращения молекул загрязнителей в безопасные формы, являются ключевыми элементами биотехнологий ремедиации окружающей среды. Центральной стадией аэробной деградации поллютантов фенольной природы является катализируемая оксигеназами окислительная атака ароматического кольца. В этом контексте гены оксигеназ представляют собой важный объект мониторинга, позволяющего охарактеризовать штаммы-деструкторы.

Цель настоящей работы – выявление особенностей генов оксигеназ бактерий для последующего применения полученных данных в разработках методов очистки окружающей среды нового поколения.

Объектом исследования являлись бактерии-деструкторы хлорзамещенных ароматических производных, выделенные из почв зоны нефтехимического производства. Детекция катаболических генов осуществлена с применением панели праймеров к консервативным районам генов оксигеназ, контролирующих разрыв ароматического кольца до интермедиатов, доступных для утилизации в цикле Кребса. При проведении ПЦР в качестве матрицы использовались препараты лизатов клеток бактерий, а также образцы тотальной ДНК.

В ходе работы были определены основные физиолого-биохимические характеристики и филогенетическое положение деструкторов. Установлено, что в геноме *Achromobacter* sp. ЗБР присутствует кодирующий монооксигеназу *tbmD* подобный ген, в то время как его гомологи не обнаруживаются у представителей родов *Agromyces*, *Cellulosimicrobium*, *Gluconobacter*, *Pseudomonas* и *Rhodococcus*. Полученные данные указывают на то, что у всех изученных штаммов отсутствуют гены *xylM*, *xylE1*, *xylE2*, *todE* и *todC1*.

Результаты работы раскрывают генетическое разнообразие бактерий и определяют возможности применения изученных деструкторов в разработках способов очистки техногенной среды.

## УВЕЛИЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПРОМОТОРА ГЕНА *GAP* ДРОЖЖЕЙ *PICHLIA PASTORIS* ПРИ СВЕРХПРОДУКЦИИ СОБСТВЕННОГО АКТИВАТОРА ТРАНСКРИПЦИИ

Цыганков М.А., Падкина М.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7/9

[mial.tsygankov@yandex.ru](mailto:mial.tsygankov@yandex.ru)

Дрожжи *Pichia pastoris* представляют удобную систему экспрессии гетерологичных генов. Особенности *P.pastoris* являются простота культивирования, разработанные методики генетических манипуляций, наличие ферментов посттрансляционных модификаций эукариотических белков. Сильный индуцируемый промотор гена алкогольоксидазы-1 (*PAOX1*) чаще всего используют в биотехнологии. Недостатком *PAOX1* является токсичность индуктора метанола. Поэтому идет поиск вариантов промотора, транскрипция которых не зависит от метанола, а также других регулируемых промоторов, сравнимых с *PAOX1* по силе. Так, в штамме с делециями генов  $\Delta mig1\Delta mig2\Delta nrg1$ , отвечающих за катаболитную репрессию *PAOX1*, и сверхпродукцией активатора транскрипции *Mit1p* активность *PAOX1* на среде с глицерином составляла 77% активности на среде с метанолом [1]. Увеличение дозы белков активаторов не всегда приводит к усилению экспрессии контролируемых генов. Тем не менее, сверхпродукция транскрипционного фактора Gal4-Like Protein (*Gal4-LP*) повышала активность промотора гена *GAP* (*PGAP*), в котором были дублированы сайты связывания *Gal4-LP*, примерно в 2,2-3,0 раза [2]. Мы получили штамм с двумя копиями *PGAP*, одна из которых контролирует транскрипцию гена *Gal4-LP*, а другая – транскрипцию репортерного гена *PHO5*, кодирующего кислую фосфатазу дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, и наблюдали увеличение активности промотора *PGAP* в 2,6 раза. Это сравнимо с ранее полученными результатами [2]. Отличие нашего подхода заключается в том, что не использован *PAOX1* для сверхэкспрессии гена *Gal4-LP* и не модифицирован *PGAP*. Возможно, в нашем варианте положительная обратная связь между *PGAP* и активатором *Gal4-LP* приводит к увеличению активности обеих копий промотора и, как следствие, к повышению уровня транскрипции гетерологичного гена. Предложенная схема повышения активности *PGAP* может быть использована для усиления транскрипции и других промоторов, среди которых могут быть промоторы, сопоставимые по активности с *PAOX1*.

[1]. Wang J. [et al.], Methanol-Independent Protein Expression by *AOX1* Promoter with trans-Acting Elements Engineering and Glucose-Glycerol-Shift Induction in *Pichia pastoris*. // 2017, Sci. Rep., V.7, Article number 41850.

[2]. Ata Ö., Prielhofer R., Gasser B. [et al.], Transcriptional engineering of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase promoter for improved heterologous protein production in *Pichia pastoris*. // 2017, Biotechnol. Bioeng., V.114(10), P.2319-2327.

## THE CELLULOLYTIC ENZYMES SECRETED BY *TALAROMYCES CELLULOLYTICUS* STRAIN Y-94.

Ptitsyn L.R. , Yampolskaya T.A.

*Ajinomoto-Genetika Research Institute, Russia, Moscow, 117545, 1-st Dorozhny Proezd, b.1-1.*

[leonid\\_ptitsyn@agri.ru](mailto:leonid_ptitsyn@agri.ru)

The cellulose-degrading fungus strain *Talaromyces cellulolyticus* (formerly *Acremonium cellulolyticus*) Y-94 and derivatives of Y-94 with higher cellulase productivity, designated strains S6-25 and CF-2612, represent the best-characterized cellulase-producing members of the genus *Talaromyces*. Six cellulolytic enzymes critical for the hydrolysis of lignocellulosic biomass from strain CF-2612 were recently identified: two endoglucanases (Cel5A and Cel7B), two cellobiohydrolases CBHII (Cel6A) and CBHI (Cel7A) that attack the nonreducing or reducing end of a cellulose chain,  $\beta$ -glucosidase (Bgl3A), and xylanase (Xyl10A) [1]. In other work [2], it was shown that cellulose system of S6-25 had the same cellobiohydrolases represented about 60% of secreted proteins,  $\beta$ -glucosidase, xylanase and one endoglucanase (Cel5A) as those for strain CF-2612, but instead of Cel7B, S6-25 cells expressed another endoglucanase - Cel5C. Increasing of activity of cellulase complex in S6-25 strain at least partially may be explain by appearance of cel7A additional copy in cellular genome and variation in substrate specificity of expressed endoglucanases [2].

Now, some proteins as a minor components were identified in cellulase system of S6-25 strain: putative fructosidase;  $\beta$ -N-acetyl-hexosaminidase;  $\beta$ -galactosidase/  $\beta$ -glucuronidase; glucan endo-1,3- $\alpha$ -glucosidase; olysaccharide lyase; aspartyl protease. The strain Y94 expressed and secreted much more broad spectrum of proteins for cellulose, starch, and hemicellulose degradation (especially in fractions F4-F7 of Q-Sepharose profile ) which includes, in particular, high levels of: two types of putative glucoamylases; two types of  $\alpha$ -L-arabinofuranosidases;  $\alpha$ -amylase; streptomyces laminarinase-like protein; mutanase. Perhaps, the large differences in proteins expression (cellulose- or hemicellulose- and starch-degrading enzymes) between strains S6-25 and Y94 are connected with inactivation in S6-25 of transcription factors (TFs) involved in regulation of biomass-degrading enzyme genes.

[1] Inoue et al., Identification and characterization of core cellulolytic enzymes from *Talaromyces cellulolyticus* (formerly *Acremonium cellulolyticus*) critical for hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Biotechnology for Biofuels*, 2014, V.7, P. 151.

[2] Ptitsyn L. et al., Identification of core cellulolytic enzymes from *Talaromyces cellulolyticus* strain S6-25. *The FEBS Journal*, 284 (Suppl. 1), 2017, 104-392, p.188 (P.1.3-026).

## МИКРООРГАНИЗМЫ КАК КАТАЛИЗАТОРЫ БИОСИНТЕЗА НАНОЧАСТИЦ

Воейкова Т.А. , Журавлева О.А., Дебабов В.Г.

НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика, Россия, Москва, 117545, 1-й  
Дорожный проезд, д.1

[voeikova.tatyana@yandex.ru](mailto:voeikova.tatyana@yandex.ru)

Получение наночастиц физико-химическими способами связано с большими энергозатратами, наличием сложного оборудования, токсичными отходами. В последние годы разрабатываются альтернативные методы «зеленого синтеза» наночастиц с использованием бактерий, дрожжей, грибов и растений. Биосинтез наночастиц экологичен, проводится в мягких условиях, масштабируем. При получении с использованием микроорганизмов металлических наночастиц из солей соответствующих металлов клетки действуют в качестве восстанавливающих и стабилизирующих агентов. Стабилизация наночастиц происходит за счет адсорбции на их поверхности гидрофильных молекул, в основном, белков. При получении наночастиц сульфидов металлов в среде, содержащей источники ионов металлов и серы, основная роль микроорганизмов заключается в поставке биомолекул, адсорбирующихся на поверхности наночастиц, от которых во многом зависят биологические и квантово-механические свойства наночастиц. Важным классом наноматериалов являются нанокристаллы полупроводников или квантовые точки (QDs). Халькогениды металлов, такие как  $Ag_2S$ ,  $CdS$  и  $ZnS$ , обладают уникальными электронными и оптическими свойствами, используются как элементы солнечных батарей, фотокатализаторы, флуорофоры. В НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИгенетика разработан простой и экологически чистый способ получения наночастиц  $Ag_2S$ ,  $CdS$  и  $ZnS$  с использованием штаммов микроорганизмов различных таксономических групп [1,2]. Концентрация наночастиц в водных суспензиях составляет 1–4 мг/мл. Определены основные характеристики биогенных наночастиц: форма; размер; кристаллическая структура; эффективный диаметр; уровень люминесценции;  $\zeta$ -потенциал; антибактериальная активность. На поверхности наночастиц идентифицированы белки внешней мембраны бактериальных клеток; доказана избирательность адсорбции определенных белков; проведена эффективная иммобилизация биогенных наночастиц на поверхность различных полимерных носителей для создания новых нанокомпозитных материалов.

[1]. Воейкова Т. А., Оптимизация микробного синтеза наночастиц сульфида серебра. // 2016, Биотехнология, Т.33, №3, С. 38-46.

[2]. Воейкова Т. А., «Белковая корона» наночастиц сульфида серебра, полученных в присутствии грамотрицательных и грамположительных бактерий. // 2017, Молекулярная генетика, микробиология, вирусология, №4, стр. 151-156.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты № 16-04-00471 и №19-04-00088).

## СКРИНИНГ ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ *Bacillus thuringiensis*, ОБЛАДАЮЩИХ ЭНТОМОЦИДНОЙ И АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Гришечкина С.Д.<sup>1</sup>, Ермолова В.П.<sup>1</sup>, Антоненц К.С.<sup>1</sup>, Нижников А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, Санкт-Петербург-Пушкин; 196608, ш. Подбельского.3  
[svetagrishechkina@mail.ru](mailto:svetagrishechkina@mail.ru)

Одним из важнейших направлений биотехнологии является создание экологически безопасных средств защиты растений, обеспечивающих эффективный контроль вредителей и болезнетворных агентов. Одно из центральных мест в этой области занимает выявление природных изолятов микроорганизмов, обладающих требуемыми характеристиками по технологичности, активности и спектру действия. В настоящее время наибольшее распространение получили бактериальные препараты на основе кристаллообразующих грамположительных бактерий *Bacillus thuringiensis* (*Bt*), обладающих высокой вирулентностью и патогенностью по отношению к насекомым, безопасностью для теплокровных организмов, а также значительным адаптационным потенциалом.

В результате проведенного скрининга природных изолятов нами были выделены и отобраны 86 культур бактерий, 12 из которых по энтомоцидности и результатам морфологического анализа были отнесены к виду *Bacillus thuringiensis*. Пять из них принадлежали к сероварианту Н<sub>1</sub> (var. *thuringiensis*) и 7 – к сероварианту Н<sub>10</sub> (var. *darmstadiensis*). По биохимическим характеристикам изоляты оказались близки к типовым штаммам. По титру лучшие показатели были у изолятов № 17 *Bt*Н<sub>1</sub> и № 56 *Bt*Н<sub>10</sub>, которые незначительно уступали эталонам по содержанию экзотоксина. Секвенирование участков генома, кодирующих 16S рРНК и В-субъединицу ДНК-гиразы подтвердило филогенетическую принадлежность изолятов № 17 и № 56.

Аналитическая селекция позволяет добиться значительного улучшения технологически-значимых показателей соответствующих штаммов бактерий. После проведения селекции титр и содержание экзотоксина у *Bt*Н<sub>1</sub> № 17 увеличились в 1,32 и 1,50 раза, а у *Bt*Н<sub>10</sub> № 56 – в 1,52 и 1,70 раза, соответственно. Помимо энтомоцидной активности изоляты № 17 и 56 проявляли также антифунгальные свойства в отношении ряда видов фитопатогенных грибов. Работа поддержана проектом прикладных научных исследований и экспериментальных разработок (ПНИЭР) по лоту шифр 2017-14-579-0030 по теме: «Создание микробиологических препаратов для расширения адаптационного потенциала сельскохозяйственных культур по питанию, устойчивости к стрессам и фитопатогенам» (шифр заявки «2017-14-579-0030-013»), Соглашение № 14.607.21.0178, уникальный идентификатор работ (проекта) RFMEFI60717X0178.

## ОБРАЩЕННОЕ БЕТА-ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ – ГИБКАЯ БИОХИМИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО БИОСИНТЕЗА ШИРОКОГО СПЕКТРА ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ПРОМЫШЛЕННО ЗНАЧИМЫХ ХИМИКАТОВ

Гулевич А.Ю.<sup>1</sup>, Скороходова А.Ю.<sup>1</sup>, Дебабов В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ “Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”, Россия, Москва, 117545 1-ый Дорожный проезд д.1;  
e-mail: [gulevich@genetika.ru](mailto:gulevich@genetika.ru)

Современной тенденцией промышленной биотехнологии ориентированной на получение полезных химикатов является разработка микробных биосинтетических платформ. Предполагается, что многие промышленно значимые химикаты могут быть получены в результате серий относительно простых превращений из нескольких ключевых интермедиатов центрального метаболизма клетки, таких как ацетил-КоА, пировиноградная и щавелевоуксусная кислоты. Таким образом, биосинтез структурно родственных соединений, в рамках соответствующего подхода, возможен на основе единого базового рекомбинантного штамма, при вовлечении определенного центрального метаболита в целевой платформенный биохимический путь. В ряде случаев подобные биохимические платформы обладают свойством итеративности, обеспечивая приращение углеродной цепи формируемых молекул на каждом новом функциональном раунде. Такая характеристика микробных биосинтетических платформ является их дополнительным преимуществом,кратно расширяющим спектр возможных продуктов биосинтеза.

Биохимической основой одной из немногих экспериментально верифицированных на сегодняшний день итеративных биосинтетических платформ служит обращенный путь бета-окисления жирных кислот (БОЖК). При искусственном обращении в биосинтетическую сторону, БОЖК использует в качестве ключевого предшественника ацетил-КоА, вовлекая тот же метаболит в удлинение углеродной цепи на каждом последующем раунде цикла. Ключевые реакции обращенного БОЖК включают первичную конденсацию затравочной молекулы ацил-КоА и удлиняющей молекулы ацетил-КоА с формированием 3-кетоацил-КоА, его конверсию в 3-гидроксиацил-КоА, дегидратацию последнего с формированием 2-еноил-КоА и восстановление двойной связи с образованием удлиненной молекулы ацил-КоА. В итоге, в зависимости от терминальных ферментов, катализирующих финальные стадии превращений соответствующих КоА-интермедиатов цикла, конечными продуктами биосинтеза могут являться различные типы химических соединений.

С использованием принципа обращения БОЖК продемонстрирован биосинтез из гликолитических субстратов алканов, алифатических карбоновых кислот и спиртов, содержащих от 4 до 10 атомов углерода. Показан биосинтез функционализированных производных: 1,3-бутандиола, 3- и 4-гидроксимасляной, а также адипиновой и левулиновой кислот. Эти соединения обладают высоким рыночным потенциалом и их микробиологический синтез может стать экологически оправданной альтернативой нефтехимическому.

**Благодарности:** Работа поддержана грантом РФФИ № 18-29-08059.

## ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ШТАММА 800/15 БАКТЕРИИ *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*

Ермолова В.П.<sup>1</sup>, Гришечкина С.Д.<sup>1</sup>, Антонец К.С.<sup>1</sup>, Белоусова М.Е.<sup>1</sup>, Яхно В.В.<sup>1</sup>,  
Нижников А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, Санкт-Петербург-Пушкин; 196608, ш. Подбельского.3

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», шоссе Подбельского, 3, Санкт-Петербург, Пушкин, 196608, Россия

[ermolovavalya1940@mail.ru](mailto:ermolovavalya1940@mail.ru)

Грамположительные спорообразующие бактерии *Bacillus thuringiensis* в настоящее время являются одним из приоритетных средств биологической защиты растений, занимая около половины мирового рынка микробиологических препаратов. Ранее сотрудниками ФГБНУ ВНИИСХМ был выделен штамм *Bacillus thuringiensis* № 800/15. Его последовательное изучение и анализ комплекса свойств (морфолого-культуральных, биохимических и серологических) согласно схеме De Barjas и Bonnefoi, позволило отнести его к номинативному подвиду var. *thuringiensis* (серотип *BtH<sub>1</sub>*). Результаты идентификации были подтверждены данными молекулярной филогенетики при секвенировании последовательностей, кодирующих 16S рРНК и В-субъединицу ДНК-гиразы *gyrB*.

На основе штамма *BtH<sub>1</sub>* 800/15 был получен биологический препарат (жидкая форма), включающий споры бактерии, кристаллический эндотоксин и термостабильный экзотоксин. Полевые испытания препарата против ряда вредоносных насекомых из отрядов жесткокрылых (*Leptinotarsa decemlineata* Say., *Henosepilachna vigintioctomaculata* Motsch.), чешуекрылых (*Plutella xylostella* L., *Pieris brassica* L., *P. rapae* L., *Barathra brassicae* L.), равнокрылых (*Trialeurodes vaporariorum*) и перепончатокрылых (*Pteronidea ribesii* Scop.), а также против клещей (*Tetranychus urtica* Koch.), показали его высокую эффективность (66,7-100 %), которая не проявляла значимую зависимость от географической зоны. Лабораторные опыты выявили ростстимулирующее действие препарата на всхожесть, высоту проростков и длину корней прорастающих семян хозяйственно значимых культур растений на 32-52 % по сравнению с контролем. Эффективность препарата в отношении использованных в анализе видов фитопатогенных грибов достигала 54 %. Таким образом, биологический препарат, полученный на основе *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* № 800/15, обладает полифункциональными свойствами, включающими энтомоцидную, ростстимулирующую и антифунгальную активности.

Работа поддержана проектом прикладных научных исследований и экспериментальных разработок (ПНИЭР) по лоту шифр 2017-14-579-0030 по теме: «Создание микробиологических препаратов для расширения адаптационного потенциала сельскохозяйственных культур по питанию, устойчивости к стрессам и фитопатогенам» (шифр заявки «2017-14-579-0030-013»), Соглашение № 14.607.21.0178, уникальный идентификатор работ (проекта) RFMEFI60717X0178.

## IMPROVEMENT THERMOSTABILITY OF CBHI FROM *TALAROMYCES CELLULOLYTICUS*.

Yampolskaya T.A, Kutukova E.A, Ivanov I. Yu

*Ajinomoto-Genetika Research Institute, 1-st Dorozhny Proezd, b.1-1, 117545, Moscow, Russia*

*Ivan Ivanov@agri.ru*

Thermo stable hydrolytic enzymes are demanded candidates for number of industrial processes due to better overall stability and potentially higher specific activity of the enzymes at elevated temperatures. Hydrolysis of insoluble cellulose by fungi requires the co-operation action of three classes of cellulolytic enzymes, namely endo- $\beta$ -1,4-glucanasees, cellobiohydrolases and  $\beta$ -glucosidases; key cellulase enzyme is cellobiohydrolase I (CBHI or Cel7A) (EC3.2.1.91). In aim to improve thermostability of CBHI from *Talaromyces cellulolyticus* (formerly known as *Acremonium cellulolyticus*), rational design of gene *cbh1* sequence was carried out. For some filamentous fungi substitutions of amino acids [1] and even replacement of sequence blocks [2] leading to increase in CBHI thermostability were identified; the corresponding modifications were fulfilled in the sequence of *cbh1* gene of *T. cellulolyticus*. Other *cbh1* alterations were based on the analysis of *T. cellulolyticus* CBHI amino acid sequence in compare with known thermostable fungal enzymes. The modifications include building of new disulphide bonds, new hydrogen bonds, the creation of new sites for N-glycosylation and possibilities for electrostatic interactions. As result 37 mutants of *cbh1* genes were constructed; among them 20 mutants contain single replacement and 16 double; in one gene (“chimera”) 25 amino acids (337 – 361) were replaced on the special sequence block. After expression of mutant genes in *Sac. cerevisiae*, 8 proteins were selected as enzymes with improved thermostability (N292D; G43D; T63D; N54C/P191C; V267N; V267C/K320C; V267C/P317C and “chimera”), 2 of them – “chimera” and N292D possess notably improved specific activity (5 times) at both standard and elevated temperature. However, combination of the best modification led to only 20% increase in activity and stability at 58°C. It also can be noted that all thermostable point mutants have alterations concerned with building of new disulphide or hydrogen bonds; so, such modifications appear to be most important for cellulase enzyme stability.

[1] Voutilainen et al., Expression of *Talaromyces emersonii* cellobiohydrolase Cel7A in *Sac. cerevisiae* and rational mutagenesis to improve its thermostability and activity. *Prot Eng, Des & Select*//2010,V.23,P.69–79

[2] Heinzelman et al., Efficient screening of fungal cellobiohydrolase class I enzymes for thermostabilizing sequence blocks by SCHEMA structure-guided. *Prot Eng, Des & Select*//2010,V.23,P.871-880

## ПОЛНОГЕНОМНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ КАК ОСНОВА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ БАКТЕРИЙ

Николайчик Е.А.<sup>1</sup>, Вычик П.В.<sup>1</sup>, Крук А.Н.<sup>1</sup>, Кравченко У.А.<sup>1</sup>, Дюбо Ю.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Беларусь, Минск, пр. Независимости, 4

[nikolaichik@bio.bsu.by](mailto:nikolaichik@bio.bsu.by)

Понимание механизмов адаптации клетки к меняющимся условиям и планирование генноинженерных манипуляций требует изучения транскрипционной регуляции, в основе которой лежит специфическое взаимодействие транскрипционных факторов (ТФ) с сайтами связывания в ДНК (операторами). Однако экспериментальные исследования транскрипционной регуляции трудоемки и потому немногочисленны для немодельных организмов. В этой работе описано применение универсального метода идентификации бактериальных операторов *in silico*, основанного на использовании извлеченной из 3D-структур информации об определяющих специфичность распознавания контактах аминокислотных остатков ДНК-связывающих доменов с азотистыми основаниями ДНК, для анализа операторов в геноме *Pectobacterium carotovorum*. Принцип метода предложен в работе [1], а наша реализация доступна в версии 2 программного пакета с открытым кодом Sigmoid [2].

Сканирование белковых последовательностей *P. carotovorum* с помощью скрытых марковских моделей из базы данных PFAM выявило 262 ТФ, принадлежащих к 28 семействам. Поисковые профили созданы для ТФ из 10 семейств, представленных в исследуемом протеоме более чем пятью белками. В результате анализа 10 семейств ТФ найдены наиболее вероятные операторы для 130 транскрипционных факторов. Таким образом, для типичной энтеробактерии удастся идентифицировать наиболее вероятные операторные мотивы (и регулоны) для примерно половины транскрипционных факторов. Эти мотивы требуют верификации, однако значительная их часть основана на экспериментальных данных (собранных в базах данных типа RegulonDB), а ТФ с идентичными контактами с ДНК встречаются и у эволюционно отдаленных организмов, что позволяет надежно "ретранслировать" подтвержденную информацию об операторах для организмов, для которых такой информации не имеется.

В докладе будут представлены особенности и сложности применения алгоритма (а также его эффективность) для разных видов бактерий и результаты экспериментальной верификации наиболее интересных (с точки зрения контроля вирулентных свойств) из предсказанных операторов.

1. Sahota, G, Stormo, G. Novel sequence-based method for identifying transcription factor binding sites in prokaryotic genomes // 2010, Bioinformatics, V.26, P.2672-2677

2. Nikolaichik Y., Damienikan A.U. Sigmoid: a user-friendly tool for improving bacterial genome annotation through analysis of transcription control signals. // 2016, PeerJ, V.4, P.e2056

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ Б18Р-117

## ЛЕТУЧИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ, СИНТЕЗИРУЕМЫЕ БАКТЕРИЯМИ: НОВЫЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИЙ С ПРО- И ЭУКАРИОТИЧЕСКИМИ ОРГАНИЗМАМИ; УЧАСТИЕ В КОММУНИКАЦИИ БАКТЕРИЙ; МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

Плюта В.А.<sup>1</sup>, Попова А.А.<sup>2</sup>, Сидорова Д.Е.<sup>1</sup>, Мелькина О.Е.<sup>3</sup>, Завильгельский Г.Б.<sup>3</sup>,  
Кокшарова О.А.<sup>4</sup>, Хмель И.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики Российской академии наук, Россия, Москва, 123182, пл. И.В. Курчатова, д. 2;

<sup>2</sup>ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского Россия, Москва, 117312, Проспект 60-летия октября, д. 7, корп. 2;

<sup>3</sup>ФГБУ «ГосНИИгенетика» НИЦ "Курчатовский институт", Россия, Москва, 117545, 1-й Дорожный проезд, д. 1;

<sup>4</sup>НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ, Россия, Москва, 119992, Ленинские горы, д. 1, стр. 40;

[plyutaba@gmail.com](mailto:plyutaba@gmail.com)

Микроорганизмы способны синтезировать летучие органические соединения (ЛОС) различной химической природы. Изучение природы, функциональной и экологической роли, механизмов действия и биосинтеза ЛОС – это новое актуальное направление, имеющее важное фундаментальное и прикладное значение, открывающее мало изученные аспекты конкурентных отношений между микроорганизмами и закономерности их взаимодействия с высшими организмами. Недавно была опубликована база данных идентифицированных ЛОС (более 2000), продуцируемых бактериями и грибами. Среди бактериальных ЛОС преобладают кетоны, спирты, терпены, кислоты, углеводороды, серо- и азот- содержащие соединения. ЛОС способны модулировать рост и метаболизм про- и эукариот, влиять на синтез вторичных метаболитов, функционировать как сигналы дистанционной коммуникации нового типа между различными организмами. Функциональная роль ЛОС и механизмы их действия на различные биологические объекты в настоящий момент остаются слабо изученными.

Объекты нашей работы - ЛОС, образуемые почвенными бактериями родов *Pseudomonas* и *Serratia*. С помощью методов газовой хроматографии и масс-спектрометрии показано, что бактерии синтезировали в наибольшем количестве диметилдисульфид (ДМДС), кетоны (2-ундеканон, 2-нонанон, 2-гептанон), ундецен. Суммарные газовые смеси, выделяемые бактериями, и индивидуальные ЛОС оказывали ингибиторное действие на агробактерии (на рост и образование биопленок), цианобактерии, фитопатогенные грибы, растения, на нематод и дрозофил. С использованием специфических *lux*-биосенсоров было установлено, что кетоны и ДМДС подавляют функционирование Quorum Sensing систем регуляции экспрессии генов бактерий. Действие ЛОС не вызывало окислительный стресс, и снижало транскрипцию с промоторов генов *katG*, *soxS* и *oxyS*, индуцируемых окислительным стрессом. Показано, что ЛОС ингибируют рефолдинг термоинактивированных бактериальных люцифераз в клетках *E. coli* (особенно у мутанта без белка-шаперона IbpB). При изучении действия ЛОС на чувствительность клеток *E. coli* к антибиотикам с различными механизмами действия наблюдалось повышение устойчивости клеток при совместном действии гентамицина с 2-нонанолоном или ДМДС; при совместном действии кетонов и ципрофлоксацина выживаемость клеток снижалась.

С целью выяснения механизмов действия ЛОС получены мутанты цианобактерий, устойчивые к действию кетонов; локализованы гены, определяющие устойчивость к 2-нонанолону.

Работа частично финансировалась грантами РФФИ № 18-34-00396-мол\_а и 18-04-00375-а.

## ВЛИЯНИЕ НАДФ<sup>+</sup>-ЗАВИСИМОЙ ФОРМИАТ ДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ *PSEUDOMONAS* НА ПРОДУКЦИЮ L-ЛИЗИНА В ШТАММАХ *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM*

Рябченко Л.Е.<sup>1</sup>, Леонова Т.В.<sup>1</sup>, Шустикова Т.Е.<sup>1</sup>, Герасимова Т.В.<sup>1</sup>, Яненко А.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра “Курчатowski институт”, Россия, 113545 Москва, 1-ый Дорожный пр., д.1  
[ryabchenko@genetika.ru](mailto:ryabchenko@genetika.ru)

Уравнение биосинтеза L-лизина в клетках коринебактерий - 2пируват + 4(НАДФН + Н<sup>+</sup>) + 2АТФ + 2NH<sub>3</sub> = лизин + 4НАДФ<sup>+</sup> + 2АДФ + 2Ф. Поскольку на синтез 4 молекул НАДФН расходуется основной источник углерода для синтеза лизина – глюкоза, то синтез НАДФН с помощью других метаболических реакций мог бы положительно сказаться на продукции лизина. Фермент формиатдегидрогеназа из *Pseudomonas* (FDH-Pse) катализирует превращение формиата в СО<sub>2</sub> с одновременным образованием НАДН. Тишков В.И. с соавторами (МГУ) путем введения мутации в ген *fdhPse* (D221Q) изменили субстратную специфичность формиатдегидрогеназы с НАД<sup>+</sup> на НАДФ<sup>+</sup>.

Проведено клонирование мутантного гена *fdhPse* в клетках штаммов-продуцентов лизина *C. glutamicum*, имеющих свою не НАДФ<sup>+</sup>-зависимую формиатдегидрогеназу. При введении мутантного гена *fdhPse* на автономной плазмиде pNS2 в клетках штаммов-продуцентов появляется активность НАДФ<sup>+</sup>-зависимой формиатдегидрогеназы. Уровень активности зависел от штамма и варьировал от 0,5 до 10,8 нмоль/мин мгб. При проведении ферментаций в пробирках со 100 г/л глюкозы в присутствии 2,5 - 8 г/л формиата аммония наблюдалось замедление роста культуры и увеличение конечной концентрации лизина как в случае штаммов с мутантным геном *fdhPse* на плазмиде, так и без него. Следовательно, увеличение биосинтеза лизина не было связано с дополнительным образованием НАДФН в присутствии гена *fdhPse*, а возможно объяснялось образованием дополнительного углеродного субстрата (СО<sub>2</sub>) под действием собственной формиатдегидрогеназы.

При клонировании гена *fdhPse* в хромосому высокопродуктивного штамма Н215 с заменой собственных *fdh* генов (штамм Н217) активность НАДФ<sup>+</sup>-FDH-Pse составляла 1,3 – 1,5 нмоль/мин мгб. Добавление 8 г/л формиата аммония при ферментации в пробирках приводило к увеличению продукции лизина исходным штаммом Н215 на 8%, а штаммом Н217 - на 20%. При 50 ч ферментациях в 3 л ферментерах добавление формиата не оказывало положительного влияния на биосинтез лизина исходным штаммом Н215. В случае штамма Н217 наблюдалось увеличение конверсии глюкозы в лизин, но при этом замедлялось ее потребление.

Показана возможность введения новых метаболических путей в штаммы-продуценты лизина. Возможные преимущества использования чужеродной НАДФ<sup>+</sup>-зависимой формиатдегидрогеназы в штаммах-продуцентах лизина и проведения ферментаций с добавлением формиата обсуждаются.

## СМЕНА АКТИВНЫХ ВИДОВ ЛИГНИНРАЗРУШАЮЩИХ БАКТЕРИЙ В КОМПЛЕКСНОМ БИОПРЕПАРАТЕ БАРКОН ПРИ ЕГО ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ

Свиридова О.В.<sup>1</sup>, Воробьев Н.И.<sup>1</sup>, Курчак О.Н.<sup>1</sup>, Онищук О.П.<sup>1</sup>, Пищик В.Н.<sup>1,2</sup>, Орлова О.В.<sup>1</sup>, Попов А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии,  
196608, Санкт-Петербург-Пушкин, ш. Подбельского, 3.

<sup>2</sup>ФГБНУ Агрофизический НИИ, 195220, Санкт-Петербург, Гражданский пр., 14  
[osviridova65@yandex.ru](mailto:osviridova65@yandex.ru)

В процессе хранения комплексных биопрепаратов может происходить не только потеря активности микроорганизмов, но и изменение в составе активных форм. В работе было изучено влияние длительного хранения (12 лет) жидкого биопрепарата Баркон при пониженной температуре (+4°C) на его эффективность. Биопрепарат Баркон представляет собой активный комплекс лигнинразрушающих микроорганизмов, способных к разложению и дальнейшей гумификации лигноцеллюлозных растительных остатков. Основной состав комплекса биопрепарата Баркон представлен бактериями *Pseudomonas fluorescens* (ОН 7 RCAM 00537) и микромицетами *Penicillium chrysogenum* Thom. (ОН 4 RCAM 00741), остальные микроорганизмы комплекса создают ассоциацию с ними из небольшого количества сопутствующей микрофлоры, представленной в основном видами бактерий родов *Microsoccus* и *Bacillus*. После длительного хранения было выявлено, что биопрепарат сохранил свою способность к гумификации растительных остатков, однако при этом наблюдалась смена видов доминирующих бактерий, участвующих в этих процессах совместно с микромицетами. Было обнаружено наличие в большом количестве споровой культуры рода *Bacillus* (по данным световой микроскопии), которая в данном случае выполнила функцию основного вида бактерии в биопрепарате. Проведение ПЦР-анализа *its*-фрагмента 16S рНК этой культуры с последующим секвенированием продукта амплификации позволило идентифицировать ее как вид *Bacillus licheniformis* (с использованием BLAST программы). Эта культура по литературным данным описывается как представитель микроорганизмов, растущих как при низких, так и при высоких температурах. Этот вид был обнаружен в почвах в экологически чистых районах Сибири, является сапрофитом и относится к полезной микрофлоре, которая способна к гумификации органических остатков. Выделенная нами культура *B.licheniformis* может быть использована для создания новых биопрепаратов для разложения растительных остатков до гумусовых форм. Данный штамм *B.licheniformis* передается в коллекцию ФГБНУ ВНИИСХМ для депонирования и дальнейшего хранения при криоконсервации.

## DEVELOPMENT OF BIDIRECTIONAL NUTRITIONAL MARKER SYSTEMS IN *TALAROMYCES CELLULOLYTICUS*

Kutukova E.A., Slivinskaya E.A., Yampolskaya T. A.

*Ajinomoto-Genetika Research Institute, Russia, Moscow, 117545, 1-st Dorozhny Proezd, b.1-1.*

*katya\_slivinskaya@agri.ru*

*Talaromyces cellulolyticus* (formerly named *Acremonium cellulolyticus*) is known as industrial producer of cellulase; its further improvement requires the use of genetic approaches. Nutritional markers are extremely convenient for genetic manipulation with filamentous fungi; some markers, such as *pyrF* (encoding orotate phosphoribosyltransferase), *niaD* (encoding nitrate reductase) or *sC* (encoding ATP sulfurylase) are bidirectional allowing the selection of both the presence and absence of the functional gene product. These provide a simple screen for the isolation of transformants as well as permits to get rid from marker gene. Since very few markers are known for this fungus, the development of new markers, especially bidirectional ones, was extremely important to facilitate the work with this microorganism. However, for *T. cellulolyticus* currently only one such marker system, based on the deletion and amplification of the *pyrF* gene is available. Success usage of *niaD* and *sC* was shown for *Aspergillus niger* and other fungi, but unfortunately, in *T. cellulolyticus*, construction of these markers was complicated by a significant undergrowth mycelium on a selective medium. Another problem is necessity to use very large DNA fragments, including 3-5 kbp flanked regions for homologous recombination. To overcome these problems, we developed a scheme for construction deletions using the antibiotic resistance gene (for example, *hph*, providing hydromycin C resistance) and two PCR-synthesized DNA fragments. The fragments were overlapping in the area of about 500 nucleotides located in the *hph* gene. Implementation of this scheme allowed us to design in *T. cellulolyticus* all 3 deletions:  $\Delta pyrF::hph$ ,  $\Delta niaD::hph$  and  $\Delta sC::hph$ .

Antibiotic resistance gene can be flanked with direct repeats of about 500 nucleotides; due to these repeats, the marker for antibiotic resistance can be cut out from the chromosome after several passages of mycelium on medium without antibiotic. Thus, the presented scheme allows knocking out target genes to establish bidirectional nutritional selective systems in *T. cellulolyticus*.

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ КАТАБОЛИЗМА СТЕРОИДОВ У *NOCARDIOIDES SIMPLEX* ВКМ Ас-2033Д ПРИ ИНДУКЦИИ ФИТОСТЕРИНОМ

Фокина В.В.<sup>1</sup>, Донова М.В.<sup>1</sup>, Штратникова В.Ю.<sup>2</sup>, Брагин Е.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ООО Фарминс, Россия, г. Пущино, Московская обл., 142290, ул. Институтская, 4;

<sup>2</sup>Факультет биоинженерии и биоинформатики Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 73  
[vvfokina@rambler.ru](mailto:vvfokina@rambler.ru)

Штамм актинобактерий *Nocardioides simplex* ВКМ Ас-2033Д эффективно осуществляет 1(2)-дегидрирование 3-кетостероидов, что определяет его практическое применение в качестве промышленного биокатализатора для получения ценных 1(2)-дегидроаналогов. Штамм способен утилизировать стеринны и холаты, а также осуществляет другие реакции трансформации стероидов. Для метаболической инженерии штамма с целью улучшения его биокаталитических свойств необходима идентификация ключевых генов, вовлеченных в катаболизм стероидов.

Ранее нами были осуществлены секвенирование и сборка полного кольцевого генома, определены гены, предположительно вовлеченные в метаболизм стероидов, их организация и возможная регуляция [1]. В данной работе проводили исследование дифференциальной экспрессии генов в условиях индукции фитостерином.

Штамм *N. simplex* растили в присутствии фитостерина и без него (контроль). Очищенные препараты мРНК получали известными методами, высокопроизводительное секвенирование осуществляли на HiSeq 2000 (Illumina). В присутствии фитостерина достоверно увеличивалась экспрессия 91 гена, в том числе – 64 ортологов известных генов стероидного катаболизма из кластеров, контролируемых транскрипционными факторами KstR и KstR2, а также кластеров генов, не имеющих сайтов связывания с KstR и KstR2.

Увеличение экспрессии гена холестериноксидазы KR76\_09550 при отсутствии гена 3-гидроксистероиддегидрогеназы свидетельствует о ключевой роли этого фермента в начальном этапе окисления стериннов. Два из 3 генов *kshA*, оксигеназной субъединицы 9 $\alpha$ -гидроксилазы, увеличивали экспрессию на фитостерине, в то время как увеличения экспрессии гена, кодирующего редуказный компонент данной гидроксилазы, не отмечалось. Из пяти генов 3-кетостероид-1-дегидрогеназ (КСТД) значимо увеличивали экспрессию на фитостерине четыре гена, предположительно кодирующих КСТД с различной субстратной специфичностью. Полученные результаты согласуются с высоким уровнем КСТД активности данного штамма, его способности к накоплению стенонов из стериннов, и слабому росту на стеринах.

Результаты расширяют представления об особенностях генетического контроля катаболизма стериннов у актинобактерий и могут быть использованы при создании штаммов – продуцентов важных стероидов с улучшенными биокаталитическими возможностями.

[1]. Shtratnikova V.Y., Schelkunov M.I., Fokina V.V., Pekov Y.A., Ivashina T., Donova M.V., Genome-wide bioinformatics analysis of steroid metabolism-associated genes in *Nocardioides simplex* ВКМ Ас-2033Д. // 2016, Curr. Genet., V.62(3), P.643-656. DOI 10.1007/s00294-016-0568-4

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке МИНОБРНАУКИ РОССИИ, уникальный идентификатор проекта RFMEFI58818X0008.

## АНАЛИЗ ГЕНА БИОСИНТЕЗА МЕЛАНИНА У ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ЛЮЦЕРНЫ РАЗЛИЧНОГО ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Чижевская Е.П.<sup>1</sup>, Онищук О.П.<sup>1</sup>, Курчак О.Н.<sup>1</sup>, Андронов Е.Е.<sup>1,2,3</sup>, Симаров Б.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург, ш. Подбельского, д. 3, 196608;

<sup>2</sup>СПбГУ, Санкт-Петербург, Университетская наб, д. 7-9, 199034;

<sup>3</sup>Почвенный институт им. Докучаева, Москва, Пыжевский пер., д. 7, стр. 2, 119017.

Меланин – черно-коричневый клеточный пигмент, биосинтез которого происходит с участием фермента тирозиназы (КФ 1.14.18.1). Тирозиназы обнаружены у всех эукариотических представителей (животные, растения, грибы), а также у относительно небольшой группы прокариот [1]. Клубеньковые бактерии люцерны (*Sinorhizobium meliloti*) – один из бактериальных видов, способных синтезировать меланин (фенотип Мер<sup>+</sup>). Количество Мер<sup>+</sup> штаммов в природных популяциях *S. meliloti* может достигать до 87%.

Кодирующий тирозиназу ген *merA* у *S. meliloti* входит в состав одноименного локуса, размером около 4,8 тпн. Кроме гена *merA* локус содержит ген L-аскорбат оксидазы и две ORF, кодирующие гипотетические протеины с неизвестной функцией. При анализе полногеномных сиквенсов 13-ти штаммов *S. meliloti* из GenBank было показано, что ген *merA* может располагаться как на хромосоме, так и на симбиотических и несимбиотических плаزمиде, однако всегда присутствует только в составе *merA*-локуса [2].

В настоящей работе проведен молекулярно-биологический анализ *merA*-локуса у четырех природных популяций *S. meliloti* различного географического происхождения: западный Казахстан - 23 штамма, из них 9 Мер<sup>+</sup>; западный Таджикистан - 27 штаммов, из них 6 Мер<sup>+</sup>; Тернопольская обл., Украина - 45 штаммов, из них 39 Мер<sup>+</sup>; Псковская обл., Россия - 23 штамма, из них 7 Мер<sup>+</sup>. Для всех 118-ти природных изолятов была проведена ПЦР-амплификация трех перекрывающихся фрагментов *merA*-локуса и при наличии ответа – их секвенирование.

Было обнаружено, что независимо от принадлежности к той или иной популяции, у всех Мер<sup>+</sup> штаммов ген тирозиназы присутствует только в составе *merA*-локуса. Вероятнее всего именно в таком виде ген *merA* и был «получен» клубеньковыми бактериями люцерны при горизонтальном переносе от других бактерий.

Также *merA*-локус был выявлен в геномах 32-х Мер<sup>-</sup> штаммов, относящихся к разным популяциям. При этом какие-либо мутации в гене *merA* или перестройки в составе локуса отсутствовали. Это говорит о том, что у клубеньковых бактерий люцерны присутствуют неизвестные на сегодняшний день генетические детерминанты, необходимые для биосинтеза меланина.

[1]. Plonka P.M., Grabacka M., Melanin synthesis in microorganisms — biotechnological and medical aspects // Acta Biochim Pol. 2006. V. 53. № 3. P. 429-443.

[2]. Чижевская Е.П., Найденова Е.А., Онищук О.П. и др., Ген биосинтеза меланина у штамма SA15-1 клубеньковых бактерий люцерны: молекулярный анализ и филогения // 2018, Генетика. Т. 54. № 8. С. 922–930.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-14-02011.

## ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ *RapA1*, *pssA* и *rosR* НА ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК РИЗОБИЯМИ

Лавина А. М., Чубукова О.В., Вершинина З. Р.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, Уфа, Проспект октября 71  
[chubukova@bk.ru](mailto:chubukova@bk.ru)

Ризобактерии синтезируют большое количество экзополисахаридов (ЭПС), необходимых для установления симбиотических отношений с бобовыми растениями, питания, защиты от вредных факторов окружающей среды, формирования биопленок. Чем больше ризобии синтезируют ЭПС, тем выше их конкурентоспособность по сравнению с другими штаммами. По литературным данным, гены *R. leguminosarum pssA*, *pssB* и *rosR* играют важную роль в регуляции синтеза ЭПС [1, 2]. Для исследования влияния экспрессии исследуемых генов на синтез ЭПС и выживаемость ризобий нами был проведен скрининг штаммов *Rhizobium* из коллекции ИБГ УФИЦ РАН на наличие генов *pssA*, *pssB* и *rosR*. Данные гены были амплифицированы и клонированы в векторы для трансформации бактерий pJN105 и pJB658 под управлением индуцибельного промотора ParaBAD и Pm, соответственно. Полученными конструкциями были трансформированы ростостимулирующие штаммы *R. leguminosarum Pvu 5*, *R. leguminosarum VSy12*, *R. leguminosarum THy2*, *R. leguminosarum TPr4* и *R. galegae 0702*. Далее был проведен анализ влияния сверхэкспрессии генов *pssA*, *pssB* и *rosR* в трансформированных штаммах на рост биомассы и образование биопленок *in vitro*. Нами показано, что эффективность образования биопленок контрольными и трансформированными штаммами зависит от концентрации кальция  $Ca^{2+}$  в культуральной среде и температуры культивирования. Дальнейшие исследования показали, что трансформация штаммов *R. leguminosarum* генами *pssA* и *rosR* положительно влияет на эффективность образования биопленок. Также было выявлено, что трансформация данными генами позволяет некоторым штаммам *R. leguminosarum* преодолевать ингибирующее воздействие на биопленкообразование низких концентраций кальция в среде. Трансформация геном *pssB* уменьшала толщину биопленок *R. leguminosarum* практически в 2 раза. В случае *R. galegae 0702* значимых различий в эффективности образования биопленок трансформированными и контрольными штаммами найдено не было.

Данная работа была выполнена в рамках госзадания (тема № АААА-А16-116020350028-4) при финансовой поддержке грантов Российского фонда фундаментальных исследований № 16-04-00902 А, №18-34-00033 мол\_а, № 18-34-20004 мол\_а вед.

1. Janczarek M., Skorupska A. Regulation of *pssA* and *pssB* gene expression in *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* in response to environmental factors //2004, Antonie Van Leeuwenhoek V.85 (3). P. 217-227.
2. Janczarek M., Skorupska A. The *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* RosR: transcriptional regulator involved in exopolysaccharide production // 2007, Molecular plant-microbe interactions, V. 20(7). P. 867-881.

## Тезисы постерных докладов круглых столов и ассоциированных мероприятий / Posters of Round Tables and Associate Symposiums and Conferences

### ГЕНЕТИК – КОНСУЛЬТАНТ КАК КЛЮЧЕВОЕ ЗВЕНО РАЗВИТИЯ РЫНКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Дудурич В.В.

Генетические исследования и генотерапия становятся все доступней и постепенно входят в практику медицины. Прослеживается тенденция перехода от генетических исследований для любознательных пациентов к профессиональным генетическим тестам по рекомендациям любознательных специалистов... Реалии сегодня таковы, что основная масса врачей государственных медицинских учреждений России пока не спешит осваивать генетические технологии, тем более, что в стандартах большинства медицинских специальностей таких исследований нет, а за уклонение от стандарта врач может ответить рублем. В частных медицинских клиниках руководители стимулируют врачей к назначению генетических исследований, но многие врачи предпочитают продолжать работу по стандартам. Парадокс, но и некоторые врачи – генетики до сих пор не восприняли генетику полиморфизмов и продолжают работать в «классике», упрекая ревнителей новой генетической практики в шарлатанстве.

Никто уже не сомневается, что генетические исследования – дело очень нужное всему мировому сообществу. В средствах массовой информации идет активная популяризация результатов научно - исследовательских проектов, которые способны заинтересовать не только узкое профессиональное сообщество, но и широкий круг населения. Самые заинтересованные приобретают генетические тесты дома, через интернет, получают результаты и не знают, что с ними делать, плакать или радоваться.

Стремительное развитие рынка генетических услуг, которые оказались даже отделенными от медицинских услуг, ставит серьезные задачи. Прежде всего, это задача обеспечения кадрами генетиков – консультантов и врачей - генетиков лечебных учреждений. В любой ближайшей участковой поликлинике у пациента должна быть возможность генетического консультирования по широкому спектру соматических проблем, организации и проведения обследования. Задача информирования специалистов о направлениях генетики (репродуктивная генетика, фармакогенетика, нутригенетика, кардиогенетика, онкогенетика, психогенетика, генетика anti-age, др.) и привлечение их к сотрудничеству для повышения результативности диагностики и лечения. Задача применения современных высоких технологий в области генетики для диагностики сложных клинических случаев. Сейчас можно провести исследования от одной мутации/полиморфизма до полногеномного секвенирования.

С каждым годом генетические исследования выполняются быстрее и качественней, растет конкуренция на рынке генетических услуг, при этом, интерпретация результатов часто оставляет желать лучшего.

Главная проблема генетического рынка: отсутствие или малое количество компетентных специалистов, а именно генетических консультантов. Любое генетическое тестирование, вне зависимости от задачи, должно сопровождаться генетическим консультированием. Прежде всего, должно проводиться генетическое консультирование врача-специалиста с целью выбора оптимального метода исследования, полиморфизмов и других тестов для пациентов с патологией. Консультирование пациента \ клиента помогает определить индивидуальную потребность человека в генетическом исследовании, выбрать исследование, мотивировать на посещение врача - генетика и других специалистов. Генетик – консультант может

обеспечить психосоциальное сопровождение пациента, подготовить к получению генетической информации, сгладить ятрогенные реакции.

## ВИЗУАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОБРАЗОВ РАСТЕНИЙ КАК РЕСУРС ИНФОРМАЦИИ ПО ИСТОРИИ И АРХЕОГЕНЕТИКИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Цаценко Л. В., Савиченко Д. Л.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина»,  
Россия, г. Краснодар, ул. Калинина, 13

[lvt-lemna@yandex.ru](mailto:lvt-lemna@yandex.ru)

Изучение культурных растений с помощью иконографического анализа становится актуальным методологическим подходом в рамках исследования вопросов истории распространения культурных растений, изучения направлений селекционной работы и археогенетики сельскохозяйственных культур. В качестве метода взят иконографический анализ, основанный на междисциплинарном подходе работы по образу. В качестве образов могут выступать: иллюстрация, произведения живописи, мозаика, гобелены, почтовые открытки, марки, геральдическая символика [2,3]. Ранее метод иконографического анализа успешно был применен в работах Джулиана Яника при работе с образами кукурузы, когда было установлено, на основе цветочной гирлянды виллы Фарнезины, десять разновидностей рас этой культуры [3]. В работе Дауная и Яника по иконографии баклажана представлена информация об этапах распространения культуры в разные временные периоды и в разных странах.

Материалом для исследования послужила созданная база образов, насчитывающая 1210 единиц. Структурно материал был разделен на несколько блоков: древние, эндемичные формы, результаты селекции, разнообразие вариации признака.

Первый блок – зерновые культуры на примере пшеницы. Через анализ образов удалось найти изображение короткостебельных японских форм пшеницы, с которыми, предположительно, мог работать Х. Кихара. Далее работа была продолжена Н. Борлоугом. Этот селекционер внедрил во многих странах мира концепцию селекции высокоурожайных пшениц на основе генов полукарликовости. В настоящее время во всем мире, включая Россию, селекция пшеницы ведется исключительно на основе полукарликовости [1]. В базе образов есть несколько образов ветвистой пшеницы, которые изображены на полотнах художников различных европейских стран. Анализ образов растения пшеницы в искусстве позволил выделить несколько ключевых блоков: изменение высоты растения, распространение остистых и безостых форм; форма колоса; ареал распространения культуры.

Второй блок коллекции образов связан с распространением признака «чалмовидные плоды» у тыквенных культур. Возникновение «чалмовых плодов» связано с существованием у семейства полунижней завязи. Нам удалось найти ряд изображений тыквы декоративной, дыни, огурца, патиссона и арбуза. На основе визуального анализа признака, обнаружено наличие чалмовидных форм у различных видов семейства тыквенных, что указывает на параллелизм в изменчивости близких видов [3].

Таким образом, наличие базы образов по исследуемому объекту позволяет расширить поиск ценных и важных форм для решения задач селекции.

Список литературы

1. Беспалова Л. А. Развитие генофонда как главный фактор третьей зеленой революции в селекции пшеницы // Вестник российской академии наук, 2015. Т. 85 № 1. С. 9–11.
2. Малюга Н.Г., Цаценко Л.В. Перспективы растениеводства в XXI веке // Аграрная наука. 1998. № 4. С. 14–15.
3. Цаценко Л. В. Изображение растений, как материал для анализа в генетике и селекции // Ламберт Академик Пресс. Германия. 2014. 85с.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ПРИ СОЗДАНИИ СЕЛЕКЦИОННЫХ ФОРМ КАРТОФЕЛЯ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ОСНОВНЫМ ПАТОГЕНАМ

Антонова О.Ю.<sup>1,2</sup>, Балкин Н. А.<sup>2</sup>, Веселков А. О.<sup>2</sup>, Газизов К. И.<sup>2</sup>, Денискин Д. А.<sup>2</sup>, Денисов Н. Е.<sup>2</sup>, Константинов Н. О.<sup>2</sup>, Лапаева О. В.<sup>2</sup>, Хибиев И. Р.<sup>2</sup>, Шамшев А. А.<sup>2</sup>, Шарипова Э. Р.<sup>2</sup>, Клименко Н.С.<sup>1</sup>, Лебедева В.А.<sup>3,4</sup>, Гаджиев Н.М.<sup>3,4</sup>, Гавриленко Т.А.<sup>1</sup>

1. ФБГНУ «ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ВИР), Россия, Санкт-Петербург, Большая Морская, 42-44

2. Образовательный центр «Сириус», Россия, Краснодарский край, Сочи, Олимпийский пр., 40.

3. Ленинградский научно-исследовательский институт сельского хозяйства «Белогорка», Россия, Ленинградская область, Гатчинский район, пос. Белогорка, Институтская, 1

4. ООО Селекционная фирма «ЛуГа», Россия, Ленинградская область, Гатчинский район, пос. Белогорка, а/я 1

[olgaant326@mail.ru](mailto:olgaant326@mail.ru)

В работе был проведен молекулярный скрининг потомков сорта «Гусар», полученных в его скрещиваниях с сортами «Алый парус», «Сиреневый туман» и «Чароит». Ранее (Гавриленко и др., 2018) эти сорта были охарактеризованы на наличие маркеров доминантных аллелей генов устойчивости к важнейшим патогенам, и была разработана программа дальнейших скрещиваний для получения гибридных форм, совмещающих устойчивости обоих родителей.

Молекулярный скрининг был проведен для 58 гибридов картофеля трех комбинаций скрещиваний. Всего была изучена сегрегация маркеров семи генов, контролирующих устойчивость к основным патогенам: вирусу Y картофеля (ген *Ry-fsto*, маркер YES3-3A), вирусу X картофеля (гены *Rx1* и *Rx2*, маркеры 5Rx1 и 106Rx2 соответственно), золотистой картофельной нематоде (ген *H1*, маркеры 57R и N195), бледной картофельной нематоде (ген *Gra2*, маркер Gra2-2) и возбудителю фитофтороза (гены *R1* и *R3a*, маркеры R1 и R3a соответственно). Анализ проводили методом ПЦР со специфичными праймерами, подобранными по литературным источникам. Условия реакции в целом соответствовали рекомендованным авторами праймеров, в случае маркеров 57R, YES3-3A и N195 для большей специфичности использовали программы с функцией Touchdown. Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 2 % агарозных гелях в буфере TBE с окраской красителем и визуализацией в УФ-свете. Для каждого маркера положительным контролем служили те родительские сорта, у которых данный маркер был выявлен ранее.

В трех расщепляющихся популяциях была показана сегрегация диагностических фрагментов маркеров родительских сортов и объединение их у гибридных потомков в разных сочетаниях. Среди изученного гибридного потомства в трех комбинациях было выделено 6 генотипов, совмещающих в себе все маркеры родительских сортов, и тем самым потенциально обладающих устойчивостью ко всем анализируемым патогенам (вирусы Y и X, два вида нематод, возбудитель фитофтороза). Выделенные гибридные формы представляют интерес для селекции и в случае подтверждения результатов молекулярного скрининга данными фитопатологических тестов будут использованы для создания новых сортов.

Таким образом, применение методов молекулярной селекции позволило существенно сократить объем растительного материала, требующего фенотипической оценки, и тем самым ускорить работу по созданию сортов, обладающих устойчивостью к основным патогенам.

## ПРЕДПОЧТЕНИЯ ВРАЧЕЙ В ВЫБОРЕ МЕТОДОВ РАННЕГО ПРЕНАТАЛЬНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ: ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В РОССИИ

Ижевская В.Л.<sup>1</sup>, Жученко Л.А.<sup>2,3</sup>, Заяева Е.Е.<sup>3</sup>, Баранова Е.Е.<sup>3</sup>, Иванова Л.Ю.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Медико-генетический научный центр, Россия, Москва, ул. Москворечье, д.1

<sup>2</sup>ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Россия, Москва, ул. Щепкина, д.61/2, к.1

<sup>3</sup>ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования МЗ РФ, Россия, Москва, ул. Баррикадная, д.2/1, стр.1

<sup>4</sup>ФГБУН Федеральный научно-исследовательский социологический центр РАН, Россия, Москва, ул. Кржижановского, д.24/35, к.5

[baranova.gen@gmail.com](mailto:baranova.gen@gmail.com)

**Введение:** Новый метод неинвазивного пренатального тестирования на хромосомные нарушения у плода, НИПТ, в сравнении с ранним комбинированным пренатальным скринингом, РПС, позволяет выявлять синдром Дауна с большой степенью чувствительности и имеет меньший процент ложноположительных результатов, что приводит к уменьшению количества необоснованных инвазивных процедур. Поскольку скрининг-тесты не дают ответа «да/нет», беременные высокого риска по наличию хромосомных аномалий у плода направляются на диагностический инвазивный тест (хорионбиопсия, амниоцентез). В случае установления у беременной высокого риска хромосомной аномалии по данным РПС подтверждаются примерно 30% диагнозов, в то время как после проведения НИПТ диагноз трисомии 21 подтверждается в 99% случаев. Существенные различия между странами в выборе метода раннего пренатального скрининга врачами и беременными женщинами зависят от этнических, социодемографических и религиозных установок, а также от политики местного здравоохранения, связанной с необходимостью частичной или полной оплаты пренатального теста, наличия доступа к прерыванию беременности. Поэтому вопрос о внедрении НИПТ в рутинную практику в первую очередь должен решаться по результатам социологических исследований среди больших групп беременных женщин и врачей страны.

**Цель исследования:** Выявить ключевые предпочтения в выборе тестов раннего пренатального скрининга среди врачей для определения информированности профессионального сообщества и перспективы внедрения НИПТ в алгоритм массовой пренатальной диагностики.

**Методы исследования:** Анкетирование врачей для исследования их информированности, предпочтений по чувствительности, специфичности метода, снижению числа ИПД, а также отношения к необходимости оплаты НИПТ.

**Первые результаты:** В анкетировании приняло участие 37 врачей генетиков, акушеров-гинекологов и специалистов ультразвуковой диагностики. Было определено, что на выбор метода пренатального тестирования влияют: оправданность инвазивных процедур (выбирают более точный тест), информативность (выбирают тест с возможностью получения дополнительной информации о здоровье плода), стоимость теста (выбирают более дешевый тест). Не влияют на выбор чувствительность теста и срок получения результата.

**Заключение:** Требуется проведение дальнейшего анкетирования врачей для получения достоверных результатов и оценки влияния социодемографических и этических характеристик на выбор методов пренатальных тестирования среди профессионального сообщества.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-013-01175

## ОСОБЕННОСТИ ПРЕПОДАВАНИЯ ГЕНЕТИКИ НА КАФЕДРЕ БИОЛОГИИ ПЕРВОГО МГМУ ИМ. И.М.СЕЧЕНОВА.

Чебышев Н.В., Кузин С.М., Беречикидзе И.А., Сахарова Т.В., Горожанина Е.С.,  
Лазарева Ю.Б., Ларина С.Н., Строителева Н.Н.

Генетика является одной из самых быстроразвивающихся наук. И почти все ее достижения, особенно последнего времени, имеют не только фундаментально - научное, но и огромное прикладное медицинское значение для понимания механизмов патогенеза, диагностики, прогнозирования, профилактики и лечения наследственных заболеваний. Преподавание генетики студентам медицинских вузов имеет большое значение для получения знаний и навыков, необходимых для будущей профессиональной врачебной деятельности.

Преподавание генетики осуществляется на первом курсе в рамках дисциплины биологии, где на нее отводится 14 -15 3-х часовых занятий на лечебном, медико-профилактическом и педиатрическом факультетах. Студентам на современном уровне даются основные понятия общей и молекулярной генетики, механизмы возникновения и методы изучения наследственных болезней. Практический блок занятий включает решение генетических задач, анализ кариограмм здорового и больного человека, анализ родословных, изучение под микроскопом кариотипов, политенных хромосом и разных генных мутации на примере мух дрозофил. Лекционный блок включает как аудиторные, так и видеолекции. Для лучшего усвоения и закрепления материала студентам предлагаются учебные фильмы по изучаемым темам ( транскрипция, биосинтез белка, регуляция активности генов и др). Курс заканчивается сдачей компьютерного теста и устного собеседования с преподавателем.

Полученные знания создают преимущество для последующего более углубленного изучения генетики на клинических кафедрах, в том числе на кафедре медицинской генетики. По нашим наблюдениям, качественному изучению генетики на первом курсе на кафедре биологии способствуют: 1. предварительная подготовка будущих студентов Первого МГМУ в профильных классах и Предуниверсарии; 2. «Генетика» выделена в самостоятельную дисциплину, которую студенты изучают в течение второго семестра, после получения необходимых базовых знаний по курсу дисциплины «Биология». 3. В университете организован специальный исследовательский факультет для наиболее подготовленных и способных студентов, занимающихся углубленной программой обучения, в которой вопросам молекулярной генетики и геномике уделяется особое внимание; 4. На кафедре биологии подготовлены специализированные курсы и дисциплины по выбору, где более глубоко изучаются наиболее важные вопросы современной генетики; 5. Ведущие научные сотрудники из разных научных центров (Института биологии гена, Медико-генетического научного центра, Института персонализированной и Института регенеративной медицины) привлекаются к учебному процессу, а студенты – к научной работе в их лабораториях.

Эти и другие меры, наряду с традиционными формами обучения, приводит к повышению у студентов интереса к науке «Генетика», мотивации к обучению, развитию практических навыков, клинического мышления.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗНАНИЯ КАК ФУНДАМЕНТ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНЫ

Корженевская М.А. , Лаптиев С.А. , Розенфельд С.В.

*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.И. Павлова, Россия, Санкт-Петербург, 197022, ул. Льва Толстого, д. 6-8*

*korgmar@rambler.ru*

В мировой медицине настоящего времени наблюдается формирование новой доктрины - персонализированной медицины (ПМ), направленной на однозначную диагностику заболеваний человека и предиктивно-профилактические мероприятия. Качественное медицинское образование в условиях неуклонного научного прогресса постоянно пополняется новыми современными генетическими знаниями о строении и функционировании генома человека, о развитии эпигеномики, протеомики и метаболомики, о совершенных молекулярных технологиях. Овладение же результатами достижений в области молекулярной биологии и генетики и классическими генетическими знаниями способствуют выработке у будущего врача генетического мышления, позволяющего решить задачи ПМ при индивидуальном, или персональном, подходе к каждому пациенту с учетом его образа жизни, генотипа, геномного ландшафта, параметров эффективности терапии и уровня геномных биомаркеров. При этом наиболее оптимальным в ПМ считается использование системного биологического подхода, включающего исследования разных современных составляющих генетики, так называемых «ОМИК»: геномики, протеомики и метаболомики. Другими словами болезни и клинические показатели здоровья человека проецируются на индивидуальный геном, ведь каждый человек болеет по-своему. Перед ПМ ставятся две глобальные цели: 1. Выявление признаков заболевания на доклиническом уровне со сбором объективной информации о пациенте на основе генотипирования, анализа эпигенетических факторов и учета провоцирующих факторов среды и 2. Применение таргетной фармакотерапии с целью превенции, профилактики и реабилитации заболеваний. Геномика уже является технологией ДНЯ СЕГОДНЯШНЕГО, поскольку NGS или секвенирование геномов и транскриптомов являются отправной точкой молекулярных исследований в поиске геномных дефектов. Протеомика как современная технология повышает эффективность ранней диагностики, обеспечивая отслеживание протеомных биомаркеров при проведении лабораторного скрининга. Метаболомика как уникальная современная технология исследует метаболические профили клеток и использует две новые технологические платформы: биоинформатики и искусственного интеллекта, поскольку анализировать и интерпретировать «Гулливеровы» объемы данных становится для человеческого мозга трудновыполнимой задачей. Для достижения вышеуказанных целей требуется слаженная деятельность специалистов разных профилей и создание мультидисциплинарных рабочих команд. Традиционная российская модель медицинского образования в области генетики уже не обеспечивает потребности современной медицины и общества. Необходима принципиально обновленная генетическая школа с менталитетом завтрашнего дня, в которой классическая и современная молекулярная генетика стали бы фундаментальной многоуровневой дисциплиной медицинского образования нового поколения.



## СОЗДАНИЕ ВЕКТОРОВ ДЛЯ РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОВ *WOX* *MEDICAGO TRUNCATULA*

Ашмарина А. О.<sup>1</sup>, Баранова Д.В.<sup>1</sup>, Демина Д.С.<sup>1</sup>, Красильников М.В.<sup>1</sup>, Мукебенова П.К.<sup>1</sup>, Перевалова Е.А.<sup>1</sup>, Пигиданов А.А.<sup>1</sup>, Погорелов Д.И.<sup>1</sup>, Сизова А.С.<sup>1</sup>, Сундеева М.А.<sup>1</sup>, Ефремов А.М.<sup>1</sup>, Творогова В.Е.<sup>2</sup>, Матвеев А.Г.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Образовательный центр «Сириус»,

образовательный фонд «Талант и успех»,

354349 Россия, г. Сочи, Олимпийский проспект, д. 40

Кафедра Генетики и Биотехнологии Санкт-Петербургского Государственного Университета

199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

[krubaza@mail.ru](mailto:krubaza@mail.ru)

Соматический эмбриогенез - процесс получения эмбрионов из соматических клеток растений - широко используется в генной инженерии и растениеводстве, поэтому поиск и изучение регуляторов этого процесса являются важными задачами биотехнологии. Данные, полученные с помощью ПЦР в реальном времени, показали, что у модельного объекта *Medicago truncatula* в соматическом эмбриогенезе участвуют по меньшей мере три гена из семейства *WOX*: *MtWOX9-1*, *MtWOX11-like* и *STENOFOLIA (STF)*. Дальнейшее изучение их роли в данном процессе предполагает анализ мутантов с потерей функции этих генов. Одним из самых точных способов получения мутантов на сегодняшний день является система CRISPR-Cas9, дающая возможность вносить изменения в конкретный ген организма. В связи с этим, целью настоящей работы стало получение векторных конструкций для инактивации генов *MtWOX9-1*, *MtWOX11-like* и *STENOFOLIA* в растениях *Medicago truncatula* с помощью системы CRISPR-Cas9.

В ходе работы для вышеперечисленных генов были подобраны последовательности, являющиеся уникальными в геноме *Medicago truncatula*, которые возможно было использовать в качестве целевой последовательности в гидовой РНК. Праймеры, содержащие эти последовательности, были использованы для клонирования фрагмента, кодирующего гидовые РНК, в вектор назначения (pLSKS), содержащий последовательность гена *Cas9* под растительным промотором. В результате были созданы конструкции для инактивации каждого из трёх генов в отдельности, а также для параллельной инактивации генов *MtWOX9-1* и *MtWOX11-like*. Полученные конструкции в дальнейшем будут использованы для трансформации растений *Medicago truncatula* и редактирования их генома.

## РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА КРАСНОЗЁРНОСТИ РИСА, ОСНОВАННАЯ НА ПРИМЕНЕНИИ ДНК-МАРКИРОВАНИЯ

Алексеев В.И.<sup>1</sup>, Бобкова А.А.<sup>1</sup>, Валева К.И.<sup>1</sup>, Каракулина К.О.<sup>1</sup>, Ковязина Л.Э.<sup>1</sup>,  
Копытова А.А.<sup>1</sup>, Лешукова А.Е.<sup>1</sup>, Сагова А. А.<sup>1</sup>, Садкова А.Н.<sup>1</sup>, Шулакова Е.С.<sup>1</sup>,  
Ефремов А.М.<sup>1</sup>, Творогова В.Е.<sup>3</sup>, Мухина Ж.М.<sup>2</sup>, Матвеева Т.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Образовательный центр «Сириус»,

образовательный фонд «Талант и успех»,

354349 Россия, г. Сочи, Олимпийский проспект, д. 40

<sup>2</sup>Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Риса,

350921, Россия, Краснодарский край, город Краснодар, поселок Белозерный, 3

<sup>3</sup>Кафедра Генетики и Биотехнологии Санкт-Петербургского Государственного  
Университета

199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

[radishlet@mail.ru](mailto:radishlet@mail.ru)

Рис является важнейшей сельскохозяйственной культурой, мировые объемы производства которой исчисляются миллионами тонн. В выращивании риса существенной проблемой является смешивание семян краснозёрных и белозёрных форм, которые могут скрещиваться и засорять посеы друг друга, Признак красно- или белозёрности семян можно наблюдать лишь на стадии выметывания метелки, что затрудняет элиминирование нежелательных генотипов из сортовых смесей. В связи с этим, разработка тест-систем для диагностики краснозёрности или белозёрности риса на стадии проростков является актуальной задачей.

Основным маркером краснозёрности является ген *Rc*, отвечающий за окрашивание зерновок. Большинство краснозёрных форм риса характеризуется наличием доминантной аллели гена *Rc*, в то время как белозёрные генотипы содержат делецию в этом локусе (аллель *rc*) [1].

В настоящем исследовании была разработана и проверена тест-система для диагностики красно- или белозёрности, основанная на ПЦР в реальном времени. Система включает в себя праймеры, дающие ПЦР-продукт с обоими вариантами генотипов, а также зонды с красителями ROX и FAM, специфичные для белозёрного и краснозёрного генотипов, соответственно.

В ходе исследования мы подобрали оптимальные условия для прохождения ПЦР в реальном времени, а также оценили чувствительность метода с использованием двух зондов в одной реакционной смеси ПЦР. Показано, что в подобранных нами условиях ПЦР можно определить признак красно- или белозёрности у отдельных проростков. Также система позволяет детектировать наличие 10% примеси ДНК краснозёрного риса в белозёрном, однако детекция 1% примеси уже оказалась невозможной в подобранных нами условиях. Мы предполагаем, что чувствительность метода можно повысить, если проводить реакции ПЦР с использованием каждого из двух зондов в отдельности.

1. Токмаков, С.В., Мухина, Ж.М., Богомаз, Д.И., Матвеева, Т.В. Создание молекулярного маркера для оценки внутривидового полиморфизма по гену *Rc*, обуславливающему красную окраску перикарпа риса *Oryza sativa* L. // 2011, Экологическая Генетика, Т. 9, С. 57–67.

## АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ *MLO1* И *LYkX* ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАБОРА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ МУТАЦИЙ SURVEYOR MUTATION DETECTION KIT

Жуков В.А.<sup>1,2</sup>, Сулима А.С.<sup>1</sup>, Пайметьева Д.С.<sup>2</sup>, Раснюк Н.С.<sup>2</sup>, Мартынюк П.З.<sup>2</sup>, Зулкарнеев Ш.Р.<sup>2</sup>, Ведрова И.Н.<sup>2</sup>, Позднякова А.В.<sup>2</sup>, Крюкова П.А.<sup>2</sup>, Машкова С.Д.<sup>2</sup>, Молчанова В.А.<sup>2</sup>, Широкова М.Д.<sup>2</sup>, Тихонович И.А.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВНИИСХМ, Россия, Санкт-Петербург, 196608, ш. Подбельского, 3;

<sup>2</sup>Образовательный центр «Сириус», Россия, Краснодарский край, Сочи, 354349, Олимпийский пр., 40; <sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, 199034, Университетская наб., 7-9.

[vzhukov@ARRIAM.ru](mailto:vzhukov@ARRIAM.ru)

Характеристика генетических коллекций гороха посевного (*Pisum sativum* L.) представляет собой актуальную задачу в связи с тем, что в пределах данного вида существуют как давно окультуренные варианты, так и дикорастущие представители, которые потенциально могут нести ценные аллели генов. В работе был проведен скрининг серии генотипов гороха посевного в отношении разнообразия последовательностей генов *Mlo1* и *LykX*. Ген *Mlo1* в мутантном состоянии придает растениям устойчивость к заболеванию мучнистой росой [1]. Ген *LykX*, в зависимости от аллельного состояния, определяет узкую или широкую специфичность взаимодействия со штаммами клубеньковых бактерий [2]. Анализ полиморфизма указанных генов был проведен с использованием набора Surveyor Mutation Detection Kit (Integrated DNA Technologies Inc., США) по следующей схеме: (1) ПЦР-амплификация целевого фрагмента, (2) гибридизация ПЦР-продукта с «типовыми» вариантами генов (характерными для культурных вариантов гороха) и (3) рестрикционный анализ при помощи эндонуклеаза Surveyor, распознающей неспаренные основания («мисмэтчи») в гибридных гетеродуплексах. В результате работы установлено, что линии гороха К-6859, К-6860 и К-6861 из коллекции культурного гороха ВИР несут аллель гена *Mlo1*, обозначенную ранее *er1-2* [1] и содержащую вставку транспозона в последовательности гена *Mlo1*, нарушающую его функционирование. Также выяснено, что образцы дикого гороха *P. sativum* ssp. *fulvum* 701 и *P. sativum* ssp. *elatius* WL2123 имеют аллельное состояние гена *LykX*, свойственное большинству современных форм культурного гороха и, следовательно, должны характеризоваться широкой специфичностью взаимодействия с клубеньковыми бактериями. Таким образом, эндонуклеаза Surveyor может успешно использоваться для детекции нуклеотидных замен в последовательностях генов гороха в качестве альтернативы подходу, основанному на секвенировании.

Благодарности: семена *P. sativum* ssp. *fulvum* 701 и *P. sativum* ssp. *elatius* WL2123 любезно предоставлены д.б.н. О.Э. Костериным (ИЦиГ, Новосибирск, Россия).

[1] Humphry M., et al. Durable broad-spectrum powdery mildew resistance in pea *er1* plants is conferred by natural loss-of-function mutations in *PsMLO1*. // 2011, Mol. Plant Pathol., V. 12, N. 9, P. 866-878.

[2] Sulima A.S., et al. Selection signatures in the first exon of paralogous receptor kinase genes from the *Sym2* region of the *Pisum sativum* L. genome. // 2017, Front. Plant Sci., V. 8, P. 1957.

## СКРИНИНГ СОРТОВ И ГИБРИДОВ КАРТОФЕЛЯ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ *RB/RPI-BLB1/RPI-STO1*

Клименко Н.С.<sup>1</sup>, Антонова О.Ю.<sup>1</sup>, Евдокимова З.З.<sup>2</sup>, Костина Л.И.<sup>1</sup>, Гавриленко Т.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург, Б. Морская 42-44, Россия; <sup>2</sup>ФГБНУ Ленинградский НИИСХ "Белогорка", Институтская ул., 1, пос. Белогорка, Гатчинский район, Ленинградская область, Россия  
[ns-klimenko@mail.ru](mailto:ns-klimenko@mail.ru)

Оомицет *Phytophthora infestans* продолжает оставаться одним из наиболее вредоносных патогенов картофеля, несмотря на то, что селекция на устойчивость к фитофторозу ведется уже около 100 лет. Наиболее часто в селекционный процесс в качестве источников генов устойчивости к фитофторозу вовлекались дикие виды картофеля, произрастающие в Мексике – центре генетического разнообразия *P. infestans*. Так, с использованием традиционных методов межвидовой гибридизации в сорта картофеля были перенесены *R* гены расоспецифичной (вертикальной) устойчивости к фитофторозу от дикого мексиканского вида *Solanum demissum*, однако данный тип устойчивости быстро преодолевался патогеном. В последнее десятилетие в зарубежных селекционных программах с использованием методов «bridging species», клеточной инженерии и цис-генетики в генофонд культурного картофеля были интрогрессированы гены устойчивости к возбудителю фитофтороза (*Rpi*), контролирующие устойчивость к широкому спектру рас патогена, от диких мексиканских видов *S. bulbocastanum* и *S. stoloniferum*.

В данной работе проведен молекулярный скрининг (MAS) 183 сортов и селекционных клонов отечественной селекции с использованием внутригенных маркеров гена *RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1*, контролирующего устойчивость к широкому спектру рас *P. infestans*. Диагностические фрагменты маркеров были детектированы у трех сортов и трех селекционных клонов селекции Ленинградского НИИСХ «Белогорка», имеющих общее происхождение, созданных на основе межвидовых гибридов, полученных с участием *S. stoloniferum*. Последовательности ПЦР продуктов, полученных при амплификации с ген-специфичными праймерами *Rpi-sto1* и *BLB1 F/R*, у всех отобранных в MAS генотипов были идентичны и имели соответственно 99% и 100% гомологии с соответствующими фрагментами референсных последовательностей генов *Rpi-sto1* и *Rpi-blb1* из GenBank.

Помимо маркеров гена *RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1* у ряда образцов выявлены и другие маркеры, детектирующие генетический материал *S. stoloniferum*, - маркеры генов *Ry<sub>sto</sub>*, *Ry<sub>f<sub>sto</sub></sub>*, а также стерильный тип мтДНК *gamma*.

**Благодарности:** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 16-16-04125.

## СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ АСЕПТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ

Хумуд Б.М.Х., Апанасова Н.В., Юдакова О.И.

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет имени Н.Г.Чернышевского»,  
Россия, Саратов

[bobogold18@gmail.com](mailto:bobogold18@gmail.com)

Гаплоидные растения являются ценным материалом для селекции. Низкая спонтанная частота их образования (0,01-0,1%) делает актуальным изучение генетических механизмов партеногенеза. Модельным объектом для таких исследований могут стать линии со стабильно наследуемой повышенной частотой образования гаплоидов. На кафедре генетики СГУ имени Н.Г. Чернышевского была создана коллекция гомозиготных линий кукурузы, предрасположенных к наследуемому партеногенезу. Однако поддержание растительных коллекций в полевых условиях высоко затратно, тогда как современные технологии *in vitro* позволяют более эффективно организовать работу по сохранению гермоплазмы. Целью исследования явилась разработка технологии клонального микроразмножения растений кукурузы для создания коллекции асептических культур партеногенетических форм. Материалом послужили линии АТ-ТМ (bm,wx,y) и АТ-ТМ (lg, y), регулярно дающие в потомстве матроклинные гаплоиды. В качестве первичного экспланта использовали зрелые зародыши, которые вычленили из зерновок, обработанных препаратом «Белизна» в разведении 1:1 в течение 5 мин. Для инициации культуры зародышей использовали среды: агар-вода и Мурасиге-Скуга (MS) с добавлением витаминов по прописи среды, 20 г/л сахарозы, 7 г/л агара (Panreac). В качестве индуктора морфогенеза использовали 6-бензиламинопури (БАП). рН сред корректировали до 5,8 – 6,0 до автоклавирования. Среду автоклавировали 20 мин при 120°C. Этапы инициации стерильной культуры проводили в чашках Петри, этапы размножения – в стеклянных колбах объемом 200 мл. Для инициации стерильной культуры апробировали три состава сред: 1) агар-вода; 2) среда MS без добавления гормонов; 3) среда MS, дополненная БАП в концентрации 0,5 мг/л. Наиболее эффективной для этапа инициации стерильной культуры оказалась среда, состоящая из агара и воды. На этапе собственно микроразмножения на безгормональной среде наблюдался активный рост побега, апикальное доминирование и развитие корня. На среде ½MS БАП 0.5 мг/л корни отсутствовали, но рост побега был замедлен, и пазушные побеги не развивались. На среде MS БАП 0.5 мг/л у эксплантов не формировались корни, побеги были укорочены и в базальной части первичного побега происходило развитие пазушных меристем в боковые побеги, что позволило успешно мультиплицировать растительный материал в асептических условиях.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности по заданию №6.8789.2017/БЧ.

## ПОЛИМОРФИЗМ КОЛЛЕКЦИИ «АРСЕНАЛ» И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В УЛУЧШЕНИИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Лапочкина И.Ф., Гайнуллин Н.Р.

<sup>1</sup>ФИЦ «Немчиновка», Россия, Московская обл., 143026, Новоивановское;  
[inna-lapochkina@yandex.ru](mailto:inna-lapochkina@yandex.ru)

Сородичи мягкой пшеницы являются источниками новых и полезных генов для ее улучшения. Однако чужеродные гены становятся по настоящему доступными для селекции только после «консервации» их в геноме пшеницы в виде транслоцированных, замещенных или дополненных участков и хромосом. Интрогрессивные линии мягкой пшеницы из коллекции «Арсенал», полученные с использованием гамма-облученной пыльцы видов *Aegilops speltoides*, *Ae. triuncialis*, *T. kiharae* и *S. cereale*, представлены яровыми и озимыми формами. В образцах коллекции «законсервирована» генетическая изменчивость перечисленных видов по морфологическим, биохимическим и другим свойствам, а также по устойчивости к различным заболеваниям пшеницы (бурая, желтая и стеблевая ржавчина, мучнистая роса, темно-бурая пятнистость, фузариоз колоса). В процессе изучения выделены доноры с идентифицированными генами устойчивости к бурой ржавчине, стеблевой ржавчине и мучнистой росе. Установлено, что длительная устойчивость к бурой ржавчине у образцов коллекции контролируется полигенно и обусловлена сочетанием генов ювенильной устойчивости с генами устойчивости взрослого растения. Из коллекции выделены доноры устойчивости к опасной расе стеблевой ржавчины Ug99 с идентифицированными эффективными генами Sr. У образца к-62904 идентифицирован новый ген устойчивости к мучнистой росе *Pm32*, который занесен в Каталог генных символов пшеницы. С использованием выделенных доноров устойчивости к болезням, повышенного числа колосков в колосе, высокого содержания белка и клейковины в зерне создан вторичный рекомбинантный генофонд, который не только пополнил коллекцию «Арсенал» новыми образцами с комплексом хозяйственно-ценных признаков, но послужил созданию конкурентоспособных селекционных линий яровой и озимой пшеницы. Линии коллекции используются и в фундаментальных исследованиях. В частности, в ИЦИГ СОРАН – для локализации генов устойчивости к бурой ржавчине в геноме пшеницы и для создания изогенных линий-доноров устойчивости, а также генетических исследованиях формы колоса и опушения листа. Сотрудниками института выявлены новые гены спельтоидности  $G^S$ , опушения листа  $H12^{aes}$  и мягкозерности  $Ha-Sp$ , проводятся направленные исследования качества зерна интрогрессивных линий. В Омском ГАУ и ВНИИБЗР изучается и эксплуатируются групповая устойчивость образцов к грибным болезням. Изученные генотипы коллекции «Арсенал» периодически пополняет коллекцию ГНЦ ВИР.

## ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ КРАСНОЙ СМОРОДИНЫ (*Ribes rubrum* L.) ГЕНОФОНДА ВНИИСПК, ОРЕЛ

Пикунова А.В., Должикова М.А., Голяева О.Д.

ФГБНУ ВНИИ селекции плодовых культур, Россия, Орел, Адрес; <sup>2</sup> Организация 2  
[pikuanna84@mail.ru](mailto:pikuanna84@mail.ru)

Смородина красная менее изучена по сравнению со смородиной черной, в т.ч. с применением ДНК-маркеров.

Цель работы – получить данные о полиморфизме микросателлитных локусов сортов и гибридной семьи красной смородины для последующего составления генетических паспортов и создания генетической карты.

Выделение ДНК проводили по методике Doyle and Doyle [1] с модификациями. Использовали ранее опубликованные пары праймеров [2], а так же новые, созданные на основании сиквенсов смородины, размещенных в базе данных NCBI (неопубликованные данные). Разделение ПЦР продуктов производили в 8 % ПААГ.

На небольшой выборке образцов красной смородины и черной смородины в качестве положительного контроля амплификации протестировано 39 пар праймеров. Ряд пар праймеров не амплифицировали на ДНК красной смородины. В настоящее время получены данные о полиморфизме 10 микросателлитных локусов на 77 генотипах красной смородины (73 сорта и 4 селекционные формы), и о полиморфизме 19 микросателлитных локусов гибридной семьи (141 шт.), полученной от скрещивания Белая Потапенко x 1426-21-80.

На сортах амплифицировалось от 4 до 10 аллелей в одном локусе. Наиболее полиморфными являются локусы e1001, g1L12, g2b20, g2j08, амплифицирующие от 9 до 10 аллелей. В проанализированной выборке обнаружены уникальные и редкие аллели.

Анализ передачи аллелей от родителей к потомству позволил уточнить происхождение красноплодных гибридов, предположительно полученных от скрещивания двух белоплодных генотипов. Красный окрас ягод доминирует над белым [3]. Наличие посторонних аллелей, отсутствующих у материнской и потенциально отцовской формы в двух (g1k04, g2b20) из 11 проанализированных локусах, а так же отсутствие аллелей от потенциально отцовской формы в локусах g2b20 и 10, вероятно, свидетельствует в пользу иного, предположительно, красноплодного донора пыльцы.

При анализе гибридной семьи, было установлено, что из 19 микросателлитных локусов гетерозиготными (амплифицирующими по 2 аллеля на ДНК каждого из родителей) оказались шесть (g1a01, g2b20, e1001, g1L12, g2g12, 2). Анализ распределения родительских аллелей в этих локусах показал, что у большинства гибридов распределение аллелей соответствует теоретически ожидаемому, однако выявлено два предположительно триплоидных гибрида и один гибрид, вероятно, полученный от самоопыления.

Полученные данные в дальнейшем будут использованы для составления генетической карты черной смородины, создания генетических паспортов сортов.

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 18-76-0003.

[1]. Doyle J.J., Doyle J.L., Isolation of plant DNA from fresh tissue // Focus. 1990. V. 12. P.13-15.

[2] <http://www.fruitbreeding.co.uk/RibesGenomicsSSRs.asp>

[3] Keep E., & Knight R. L. Inheritance of fruit colour in currants and gooseberries // Annual report, East Malling Research Station, Maidstone, Kent, 1st October 1968 to 30th September 1969. 1970. P.139-142.

## ЧУЖЕРОДНЫЕ ИНТРОГРЕССИИ У МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ: РАСШИРЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЭКОНОМИЧЕСКИ ВАЖНЫХ ПРИЗНАКОВ

Пшеничникова Т.А.

ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Россия, Новосибирск, 630090,  
пр. ак. Лаврентьева, 10

[wheatpsh@bionet.nsc.ru](mailto:wheatpsh@bionet.nsc.ru)

Устойчивое развитие сельского хозяйства в настоящее время встречается с серьёзными вызовами. Они обусловлены как неблагоприятными изменениями климата Земли, так и интенсивной хозяйственной деятельностью человека. Преодоление этих вызовов во многом связано с созданием нового разнообразного генетического материала для селекции. Мягкая пшеница – вторая по значимости продовольственная культура человечества, поэтому её адаптационные возможности нуждаются в постоянном совершенствовании. Источниками востребованного генетического разнообразия являются линии пшеницы с интрогрессиями от диких и малокультурных сородичей, которые в большом числе созданы в результате генетических исследований отдалённых гибридов. Данное исследование посвящено использованию видов *Aegilops tauschii*, *Ae. speltoides*, *Ae. markgrafii* и *Triticum timopheevii* для поиска генов, определяющих адаптации к засухе и связанных с технологическими свойствами зерна и муки, а также для создания линий-доноров ценных признаков. Использование линий пшеницы с интрогрессиями из генома D *Ae. tauschii* позволило картировать локусы, ассоциированные с функционированием фотосинтетического аппарата в условиях засухи, а также идентифицировать вероятные гены-кандидаты. Из видов *Ae. speltoides* и *T. timopheevii* в мягкую пшеницу были интрогрессированы гены опушения листа, которые существенно влияли на ответные физиологические реакции в условиях водного стресса. Из этих же видов, а также из вида *Ae. markgrafii* в мягкую пшеницу были интрогрессированы гены, определяющие высокое содержание клейковины в зерне. Была определена их хромосомная локализация, а положение на хромосоме было установлено с помощью молекулярных маркёров. Созданы и испытаны в полевых условиях линии – доноры этого важного признака. Из вида *Ae. speltoides* был введён новый доминантный ген структуры эндосперма зерновки, определяющий мягкозёрность. В комбинации с аналогичным геном пшеницы были получены супермягкозёрные линии, пригодные для целей кондитерской промышленности и дистилляции спиртов. Таким образом, линии с чужеродными интрогрессиями являются надёжным резервом генов для улучшения сортов пшеницы по комплексу экономически важных признаков.

Данная работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ №18-04-00481, РФФИ\_офи №17-29-08028 и бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН №0259-2018-0018

## ВЫЯВЛЕНИЕ ЛОКУСОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ К ТЕМНО-БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ, НА ОСНОВЕ АССОЦИАТИВНОГО КАРТИРОВАНИЯ

Розанова И.В.<sup>1</sup>, Лашина Н.М.<sup>2</sup>, Ефимов В.М.<sup>1</sup>, Афанасенко О.С.<sup>2</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Россия, Новосибирск, Лаврентьева, 10

<sup>2</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», Россия, Санкт-Петербург, г. Пушкин, ш. Подбельского, д. 3

<sup>3</sup>Федеральный исследовательский центр «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова». Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44

[bykova@bionet.nsc.ru](mailto:bykova@bionet.nsc.ru)

**Цели:** Темно-бурая пятнистость, вызываемая патогеном *Cochliobolus sativus*, и сетчатая пятнистость, вызываемая патогеном *Pyrenophora teres* F. *teres* это две широко распространённые и вредоносные болезни ячменя. Выявление генетических локусов, ассоциированных с сопротивляемостью как к *C. sativus*, так к *P. teres* F. *teres* важная задача для маркер ориентированной селекции. Целью настоящей работы является выявление локусов, ответственных за сопротивляемость проростков к различным патогенам *C. sativus* и *P. teres* F. *teres* в Сибирской коллекции ярового ячменя.

**Методы:** Была создана коллекция из 96 сортов и линий ярового ячменя. Все 96 сорта были профенотипированы на стадии проростков к двум изолятам *C. sativus* (Kr2 и Ch3) и к четырем изолятам *P.teres* (S 10.2, K 5.1, P 3.4.0, A 2.6.0). Около 42% - 47% и 15% - 40% генотипов были устойчивы к темно-бурой и сетчатой пятнистостям соответственно. Для 94 сортов было проведено генотипирование на чипе Illumina Infinum с 50 тысячами маркеров, из которых 27,319 SNP (62%) прошли контроль по качеству и были использованы для ассоциативного картирования. Данные обрабатывались с помощью программ Microsoft Excel, Tassel 5, PASS и пакета R.

**Результаты:** Анализ данных с помощью GLM выявил 3 и 27 SNP для изолятов темно-бурой пятнистости Kr2 и Ch3 соответственно, и 5, 2, 28 и 2 SNP для изолятов сетчатой пятнистости S10.2, K5.1, P3.4.0, A2.6.0 соответственно. Всего три геномных региона были ассоциированы с сопротивляемостью к темно-бурой пятнистости на хромосомах 1Н, 2Н, 3Н и семь с сопротивляемостью к сетчатой пятнистости на хромосомах 1Н, 2Н, 3Н и 6Н.

Значимые SNP, выявленные в настоящей работе могут быть использованы в разработке ПЦР-маркеров для более динамичной селекции устойчивых сортов ячменя.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №16-14-00086.

## ПРОДУКТИВНОСТЬ И КАЧЕСТВО ЗЕРНА У ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ СЕЛЕКЦИИ НИИСХ ЮГО-ВОСТОКА

Сибикеев С.Н.<sup>1</sup>, Дружин А.Е.<sup>1</sup>, Баранова О.А.<sup>2</sup>, Гультяева Е.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока, Россия, Саратов, ул. Тулайкова, д.7

<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Россия, Санкт-Петербург-Пушкин, шоссе Подбельского, 3  
[baranova\\_oa@mail.ru](mailto:baranova_oa@mail.ru)

Интрогрессивные линии яровой мягкой пшеницы анализировали в 2016-2018 гг. Продуктивность зерна 23х линий сравнивали с сортом-стандартом Фаворит. Качество зерна и теста оценивали по содержанию и качеству сырой клейковины и показателям альвеографа. Вегетационные условия 2016 и 2017гг. были благоприятными, а в 2018г. острозасушливыми. В 2016г. наблюдалась сильная эпифитотия стеблевой ржавчины, в 2017г. - сильная эпифитотия бурой ржавчины и средняя стеблевой, в 2018 г. – слабое проявление болезней. Таким образом, интрогрессивные линии были оценены как в благоприятных условиях при прессе заболеваний, так и при засухе, когда пресс болезней отсутствовал. За три года анализа не выявлено значимых различий по продуктивности зерна между линиями и сортом Фаворит. Выделены перспективные линии: Л375=Л505/3/Сroc/Ae.squ(205)//Weav/4/Л505/5/Л505: средняя урожайность зерна 2643 кг/га, превышение сорта-стандарта в двух годах из трёх, низкорослая, устойчивая к полеганию, стеблевой и бурой ржавчинам (идентифицированы гены *Lr19/Sr25+Lr26/Sr31+Lr41*); Л452=Л505 2/Прох//Бел: высокорослая, но устойчивая к полеганию, к стеблевой и бурой ржавчинам (идентифицированы гены *Lr10+Lr6Ag<sup>i</sup>/Sr6Ag<sup>i</sup>+Lr26/Sr31*) средняя урожайность зерна 2935 кг/га, превышение сорта Фаворит в 2017 году, в 2016 и 2018 гг. на уровне сорта-стандарта. По содержанию клейковины почти все интрогрессивные линии соответствовали уровню сильных пшениц. Выявлено, что комбинация 7DL-7Ae#1L+1BL-1RS транслокаций не влияет на содержание и качество клейковины, упругость теста, отношение упругости теста к растяжимости, но снижает силу муки. По хлебопекарным свойствам выявлено незначимое снижение объёма хлебцев, по пористости различий не было. При этом у линии Л375 сила муки была выше, чем у сорта-стандарта, а по объёму хлебцев все линии с 7DL-7Ae#1L+1BL-1RS транслокациями были на уровне или выше стандарта. У линии Л452 отмечено влияние комбинации 6D(6Ag<sup>1</sup>) и 1BL-1RS транслокации. По всем показателям альвеографа, кроме объёма хлеба, она превзошла сорт Фаворит. У неё отмечена максимальная сила муки для линий с 1BL-1RS транслокацией. В целом выделились пять линий с высокой силой муки, превышающие порог для сильных пшениц. Максимальная сила муки, которая составила 556 ед.а, отмечена у линии Л367=Добр\*4/3/Сroc/Ae.squar(205)//Weaver с идентифицированными генами *Lr9* и *Lr19/Sr25* (транслокации от *Aegilops umbellulata* и *Agropyrum elongatum*).

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-016-00170 а

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АЛЛЕЛЕЙ Sd2H и Sd3 ГЕНА Vmyl ВЫСОКОТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ $\beta$ -АМИЛАЗЫ НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА ЯЧМЕНЯ ПИВОВАРЕННОГО

Зубкович А.А.<sup>1</sup>, Давыденко О.Г.<sup>2</sup>, Луханина Н.В.<sup>2</sup>, Шимкевич А.М.<sup>2</sup>, Зубкович Н.В.<sup>1</sup>  
Марчук О.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию, Республика Беларусь, 220072, г. Жодино, ул. Тимирязева, 1

<sup>2</sup> Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27.

[aa\\_zoubkovitch@mail.ru](mailto:aa_zoubkovitch@mail.ru)

При создании пивоваренных сортов, помимо хозяйственно-биологических свойств, селекционеры стремятся улучшить показатели качества зерна непосредственно влияющие на конечный выход пива (содержание белка, экстрактивность, фриабильность и другие). Заслуживают также внимания работы, предполагающие снижение затрат в пивоварении за счет включения в создаваемые сорта аллелей гена Vmyl, например Sd2H или Sd3, обеспечивающих повышенную термостабильность  $\beta$ -амилазы. Однако, в современных коммерческих пивоваренных сортах эти аллели практически отсутствуют [1]. Имеются отдельные публикации влияния аллелей Sd2H и Sd3 на хозяйственно-биологические свойства пивоваренного ячменя [2].

В данной работе предпринята попытка разобраться сознательно или случайно «потеряны» аллели Sd2H и Sd3 в новейших пивоваренных сортах и оценить целесообразность их присутствия во вновь создаваемых.

Ранее нами были созданы и зарегистрированы в Национальном каталоге Белгенбанка образцы Vmyl 1 (3\_F<sub>4</sub> C.I.3551/Shuffle<sup>6</sup>), Vmyl 2 (12\_F<sub>4</sub> к-29314/Shuffle<sup>6</sup>), Vmyl 3 (18\_F<sub>4</sub> C.I.3552/Shuffle<sup>6</sup>), которые являются морфологически приближенными аналогами коммерческого сорта с аллелями Sd2H и Sd3 гена Vmyl.

Для всесторонней оценки, сравнительное изучение образцов Vmyl 1, Vmyl 2, Vmyl 3 и сорта Shuffle проведено на 6 различных фонах. На фоне 1 использовался технологический регламент возделывания кормового ячменя, на фоне 2 - пивоваренного ячменя. Фон 3 отличался от фона 2 уменьшенной на 25% нормой высева, а фон 4 - увеличенной на 25%. Фон 5 включал элементы фона 2, но был посев был произведен на 14 дней позже. В фоне 6 дополнительно к элементам фона 2 была проведена подкормка N<sub>60</sub> в фазу ДК 31-35 и внесён фунгицид в фазу ДК55.

Не выявлено достоверных различий ( $P \leq 0,05$ ) по высоте растений, урожайности и выравниваемости зерна, экстрактивности, фриабильности, вязкости, содержанию в зерне белка, жира, золы, безазотистых экстрактивных веществ. Наблюдаются различия между Vmyl 1 и Shuffle по массе 1000 зерен и между Vmyl 2 и Shuffle по содержанию в зерне золы на 5% уровне значимости. На основании полученных данных можно предположить, что аллели Sd2H и Sd3  $\beta$ -амилазы не влияют на изученные показатели качества ячменя пивоваренного и могут использоваться в селекции пивоваренных сортов, однако, для окончательного вывода планируется изучить их влияние на технологические показатели качества солода (содержание аминного азота, время осахаривания, диастатическая сила, йодное число, конечная степень сбраживания).

[1]. Chiapparino E., Paolo D., Reeves J., Tuberosa E. Distribution of  $\beta$ -Amylase I haplotypes among European cultivated barleys (2006). *Molecular Breeding*, 18:341–354.

[2]. Луханина Н.В., Шимкевич А.М., Давыденко О.Г., Зубкович А.А. Поиск Sd3/Sd2H аллелей высокотермостабильной  $\beta$ -амилазы у стародавних сортов ячменя (2013). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*, 171:17-20.

## ХАРАКТЕРИСТИКА СОРТОВ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПО АЛЛЕЛЯМ ГЕНОВ ПУРОИНДОЛИНОВ *Pina* и *Pinb*

Долматович Т.В.<sup>1</sup>, Гриб С.И.<sup>2</sup>, Булойчик А.А.<sup>1</sup>, Лемеш В.А.<sup>1</sup>, Буштевич В.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

<sup>2</sup>Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию,

Республика Беларусь, 220072, г. Жодино, ул. Тимирязева, 1

[triticale@tut.by](mailto:triticale@tut.by)

Важным показателем мукомольных свойств пшеницы является характеристика текстуры эндосперма, которая определяет производственное назначение муки. Твердозерность контролируется локусом *Ha* картированным в коротком плече хромосомы 5D. Он содержит в своем составе гены *Pina-D1* и *Pinb-D1*, кодирующие белки-пуриноидины и ген *GSP1*, кодирующий белок мягкозерности. Аллельный состав генов *Pina-D1* и *Pinb-D1* определяет свойства твердозерности или мягкозерности сортов пшеницы. В случае присутствия в обоих генах аллелей дикого типа *Pina-D1a* и *Pinb-D1a* пшеница является мягкозерной, если один из этих генов является мутантным – пшеница относится к твердозерной.

Проведен скрининг 27 сортов мягкой яровой пшеницы, внесенных в Государственный реестр сортов Республики Беларусь в 2019 г. на присутствие аллелей генов пуриноидинов *Pina-D1* (*Pina-D1a* и *Pina-D1b*) и *Pinb-D1* (*Pinb-D1a*, *Pinb-D1b*, *Pinb-D1c*, *Pinb-D1d*) с помощью диагностических STS и TS-PCR маркеров, разработанных Huang X-Q. и Blure-Babel A. [1].

В результате исследований выявлено, что большинство среди изученных сортов яровой пшеницы относятся к твердозерным, так как в их генотипе выявлены мутантные аллели: *Pinb-D1b*, *Pinb-D1c*, *Pinb-D1d*. Исключение составили сорта Мадонна и Сабина (Беларусь), которые оказались носителями аллелей дикого типа *Pina-D1a* и *Pinb-D1a*.

В сортах яровой пшеницы: Дарья, Ласка, Любава (Беларусь), Славянка (Беларусь, Россия), Triso, Sorbas (Германия), Korynta (Польша), Venera (Сербия), Septima (Чехия) идентифицирован мутантный аллель *Pinb-D1b*. Носителями аллеля *Pinb-D1c* были сорта: Ростань, Рассвет, Тома, Василиса, Монета, Награда (Беларусь), Сударыня, Ладья (Беларусь, Россия), Quattro, Kvintus (Германия), Koksa, Mandaryna, Serenada (Польша) и Canuck (Франция). Сорт Verbena (Польша) оказался гетерогенным по аллелям *Pinb-D1a*, *Pinb-D1b* и *Pinb-D1c*. Фрагменты амплификации, характерные для мутантного аллеля *Pinb-D1d* присутствовали у сорта пшеницы Эврика (Беларусь).

Сорта мягкой яровой пшеницы с идентифицированными аллелями генов *Pina-D1* и *Pinb-D1* могут служить исходным материалом при целенаправленном создании генотипа нового сорта с заданными значениями твердости и мягкости эндосперма, а также использоваться в качестве положительного контроля при проведении молекулярно-генетических исследований.

[1]. Huang X-Q., Blure-Babel A., Development of simple and co-dominant PCR markers to genotype *puroindoline a* and *b* alleles for grain hardness in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // 2011, J of Cereal Science, V.53, P. 277–284.

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ОБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ ИЗ ЭФИОПИИ ПО АДАПТИВНО ВАЖНЫМ ПРИЗНАКАМ

Абдуллаев Р.А., Лебедева Т.В., Алпатьева Н.В., Чумаков М.А., Косарева И.А.,  
Радченко Е.Е.

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44  
[abdullaev.1988@list.ru](mailto:abdullaev.1988@list.ru)

Изучали потенциал изменчивости ячменей Эфиопии по устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам. В лабораторных экспериментах оценили ювенильную устойчивость 925 образцов ячменя из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) к северо-западной популяции возбудителя мучнистой росы *Blumeria graminis* (DC.) Golovin ex Speer f. sp. *hordei* Marchal. Устойчивые и восприимчивые растения коллекционных форм проанализировали также с помощью молекулярных маркеров, разработанных для идентификации гена *mlo11*. Фенотипический скрининг позволил выделить 27 устойчивых к *B. graminis* образцов, 47 форм гетерогенны по изученному признаку. Выявили 15 образцов, несущих аллель *mlo11*, который обеспечивает длительную устойчивость к мучнистой росе большинства современных сортов ячменя. Экспрессия устойчивости у этих образцов различна, что может объясняться как проявлением других, нетождественных *mlo11*, генов устойчивости, так и присутствием в генотипах выделенных образцов разных аллельных вариантов гена *mlo11*. Устойчивость к *B. graminis* остальных 59 форм контролируется эффективными генами, отличающимися от *mlo11*. Изученная коллекция неоднородна также по резистентности к краснодарской популяции обыкновенной злаковой тли (*Schizaphis graminum* Rondani). Умеренной устойчивостью к опасному вредителю характеризовались 13 образцов, 29 форм оказались гетерогенными. На фоне естественной эпидемии карликовой ржавчины (возбудитель – *Puccinia hordei* G.H. Otth.) на полях Пушкинских лабораторий ВИР (Санкт-Петербург) в 2018 г. оценили устойчивость 644 образцов. Большая часть изученных форм восприимчива к болезни. Устойчивостью характеризовались 17 образцов, из них 2 обладали резистентностью к мучнистой росе. Все устойчивые к *B. graminis* образцы изучили по чувствительности к хлоридному засолению почвы. В лабораторных опытах устойчивость к стрессору выявлена у 15 образцов ячменя. Таким образом, наши эксперименты показали, что ячмени Эфиопии характеризуются довольно высокой частотой форм, защищенных не только *mlo11*, но и другими эффективными генами устойчивости к мучнистой росе. Выявлены образцы с групповой и комплексной устойчивостью к вредным организмам, а также к абиотическому стрессору.

Работа была выполнена при поддержке РФФИ (грант № 18-016-00075).

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО ОТБОРА ПО УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ.

Агаева Е.В., Беспалова Л.А., Давоян Э.Р., Агаев Р.А,  
ФГБНУ «НЦЗ им.П.П.Лукияненко», Россия, г.Краснодар, 350012, п/о-12, Центральная  
усадьба КНИИСХ  
[lena.agaeva.69@bk.ru](mailto:lena.agaeva.69@bk.ru)

Применение ДНК-маркеров выводит селекцию сельскохозяйственных растений на качественно новый уровень, позволяя оценивать генотипы напрямую, а не через фенотипические проявления, что, в конечном счете, реализуется в создании сортов и гибридов, обладающих комплексом ценных признаков, ускоренными темпами. Особое значение приобретают гены или комплексы генов, знание которых обеспечит селекционеру существенную помощь в манипулировании различными количественными и качественными признаками и позволит более тщательно вести процесс отбора и отслеживать генетическую чистоту линий [1].

Одним из важнейших качеств новых адаптивных сортов озимой пшеницы является устойчивость к различным заболеваниям, в частности к бурой ржавчине. Для переноса генов устойчивости к этому патогену созданы селекционные линии с единичными или «пирамидами» эффективных генов Lr 26, Lr 37, Lr 9, Lr 19, Lr24. Перспективные линии, аналоги сортов Гром, Таня, Алексеич изучались в конкурсном сортоиспытании (КСИ) по четырем предшественникам (занятой пар, кукуруза на зерно, подсолнечник и озимая пшеница). Все 49 линий относятся к полукарликовому типу, их высота не превышает 90 см. Они различаются по уровню морозостойкости от слабой до высокой. Экспрес - анализ качества показал высокое содержание сырого протеина и клейковины в зерне (14,4% и 26,4% соответственно) и натуру - более 800г/л.

Урожайность линий с геном устойчивости Lr 37 в среднем по 4-м предшественникам составила 9,16 т/га. Линии с геном Lr 24 сформировали 9,33т/га, а линии с комплексами генов устойчивости Lr 37+9 и Lr 19+9 уступили им, показав урожай 9,14 и 9,0 т/га. К сожалению новым линиям с эффективными генами устойчивости пока не удалось превысить высокоурожайные сорта – стандарты Гром(9,52т/га), Таня(9,72т/га) и Алексеич (10,96т/га).

Эти результаты позволяют предположить, что введение в адаптированный генофонд нового гена или аллели изменяет внутренний гомеостаз генотипа и поэтому необходимы дополнительные ступени селекции.

## ПРОДУКТИВНОСТЬ И КАЧЕСТВО ЗЕРНА У ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ СЕЛЕКЦИИ НИИСХ ЮГО-ВОСТОКА

Сибикеев С.Н.<sup>1</sup>, Дружин А.Е.<sup>1</sup>, Баранова О.А.<sup>2</sup>, Гультяева Е.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока, Россия, Саратов, ул. Тулайкова, д.7

<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Россия, Санкт-Петербург-Пушкин, шоссе Подбельского, 3  
[baranova\\_oa@mail.ru](mailto:baranova_oa@mail.ru)

Интрогрессивные линии яровой мягкой пшеницы анализировали в 2016-2018 гг. Продуктивность зерна 23х линий сравнивали с сортом-стандартом Фаворит. Качество зерна и теста оценивали по содержанию и качеству сырой клейковины и показателям альвеографа. Вегетационные условия 2016 и 2017гг. были благоприятными, а в 2018г. острозасушливыми. В 2016г. наблюдалась сильная эпифитотия стеблевой ржавчины, в 2017г. - сильная эпифитотия бурой ржавчины и средняя стеблевой, в 2018 г. – слабое проявление болезней. Таким образом, интрогрессивные линии были оценены как в благоприятных условиях при прессе заболеваний, так и при засухе, когда пресс болезней отсутствовал. За три года анализа не выявлено значимых различий по продуктивности зерна между линиями и сортом Фаворит. Выделены перспективные линии: Л375=Л505/3/Сroc/Ae.squ(205)//Weav/4/Л505/5/Л505: средняя урожайность зерна 2643 кг/га, превышение сорта-стандарта в двух годах из трёх, низкорослая, устойчивая к полеганию, стеблевой и бурой ржавчинам (идентифицированы гены *Lr19/Sr25+Lr26/Sr31+Lr41*); Л452=Л505 2/Прох//Бел: высокорослая, но устойчивая к полеганию, к стеблевой и бурой ржавчинам (идентифицированы гены *Lr10+Lr6Ag<sup>i</sup>/Sr6Ag<sup>i</sup> +Lr26/Sr31*) средняя урожайность зерна 2935 кг/га, превышение сорта Фаворит в 2017 году, в 2016 и 2018 гг. на уровне сорта-стандарта. По содержанию клейковины почти все интрогрессивные линии соответствовали уровню сильных пшениц. Выявлено, что комбинация 7DL-7Ae#1L+1BL-1RS транслокаций не влияет на содержание и качество клейковины, упругость теста, отношение упругости теста к растяжимости, но снижает силу муки. По хлебопекарным свойствам выявлено незначимое снижение объёма хлебцев, по пористости различий не было. При этом у линии Л375 сила муки была выше, чем у сорта-стандарта, а по объёму хлебцев все линии с 7DL-7Ae#1L+1BL-1RS транслокациями были на уровне или выше стандарта. У линии Л452 отмечено влияние комбинации 6D(6Ag<sup>1</sup>) и 1BL-1RS транслокации. По всем показателям альвеографа, кроме объёма хлеба, она превзошла сорт Фаворит. У неё отмечена максимальная сила муки для линий с 1BL-1RS транслокацией. В целом выделились пять линий с высокой силой муки, превышающие порог для сильных пшениц. Максимальная сила муки, которая составила 556 ед.а, отмечена у линии Л367=Добр\*4/3/Сroc/Ae.squar(205)//Weaver с идентифицированными генами *Lr9* и *Lr19/Sr25* (транслокации от *Aegilops umbellulata* и *Agropyrum elongatum*).

**Благодарности:** Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-016-00170 а

## ИСТОЧНИКИ ПОЛЕВОЙ УСТОЙЧИВОСТИ У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПШЕНИЦЫ К НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫМ БОЛЕЗНЯМ В ТАТАРСТАНЕ

Василова Н.З.<sup>1</sup>, Асхадуллин Д.-л.Ф.<sup>1</sup>, Асхадуллин Д.-р. Ф.<sup>1</sup>, Зуев Е.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Татарский НИИСХ - ФИЦ КазНИЦ РАН, Россия, Казань, 420059, Оренбургский тракт 48;

<sup>2</sup>ФИЦ ВИГРР им. Н.И. Вавилова, С.-Петербург, Большая Морская 41-42

[nurania59@mail.ru](mailto:nurania59@mail.ru)

Грибные болезни яровой пшеницы являются одним из факторов лимитирующих её урожайность в условиях Татарстана. Возникающие и учащающиеся эпифитотии могут приводить к значительным колебаниям валового производства зерна. В системе защиты пшеницы от болезней важная роль отводится созданию устойчивых сортов. Выявление источников устойчивости - первый этап при создании таких сортов. Особенно важен поиск источников в эпифитотийные годы, когда отмечается максимальная степень поражения.

В условиях Татарстана за последние 10 лет (2009-2018 гг.) массовое развитие листовой бурой ржавчины отмечалось в 2009 году; стеблевой ржавчины в 2016 году; мучнистой росы ежегодно, кроме 2010 года, темно-бурой листовой пятнистости в 2017 году, т.е. не менее, чем один раз в 10 лет данные заболевания носят эпифитотийный характер. Поиск источников устойчивости к данным заболеваниям проводили среди коллекции пшениц в основном представленной коллекцией ВИР и включающий виды: *T. aestivum* L., *T. durum* Desf., *T. dicocum* (Schrank) Schuebl., *T. polonicum* L.

Некоторые образцы сохраняют устойчивость на протяжении 10 лет. Устойчивые образцы яровой мягкой пшеницы к листовой бурой ржавчине (2009-2018 гг.): Hoffman (к-65006, Канада), Омская 39 (к-64993, РФ, Омская обл.), Leguan (к-64387, Чехия), Воевода (к-64997, РФ, Саратовская обл.), Фаворит (к-64998, РФ, Саратовская обл.); IAS 64 x Alondra (к-58944, Бразилия), AC Taño (к-64977, Канада), Renaico INIA (к-64234, Чили); Экада 113 (к-65453, РФ, Самарская обл.). К мучнистой росе (2009-2018 гг.): Tybalt (к-64897, Нидерланды), Сутра (к-64470, Польша), Августина (к-65144, РФ, Кировская обл.), Виза, (к-64390, Беларусь), Cub к-62510, Великобритания), Ситара (РФ, Татарстан). К темно-бурой листовой пятнистости (2017-2018 гг.): Arrino (к-65995, Австралия), Nyabing (к-65997, Австралия), Тобольская (к-65846, РФ, Алтайский край), Yun Mai 35 (к-65885, Китай), Long Chun 8 (к-65881, Китай), Памяти Майстренко (к-65448, РФ, Омская обл.), Bursa (к-65852, Тунис), Sultan (к-65859, Турция), Челябинка золотистая (к-65143, РФ, Челябинская обл.), Sober (к-61221, Швеция), Уралосибирская 2 (РФ, Омская обл.). К стеблевой ржавчине (2016-2018 гг.): Тулайковская 5 (к-62927, РФ, Самарская обл.), IAS 64 x Alondra (к-58944, Бразилия), AC Cadillac (к-64565, Канада), AC Taño (к-64977, Канада), Su-Mai 2 (к-65442, Китай), Falat (к-65853, Иран), Zidane 89 (к-65855, Алжир).

У вида *T. Schrank*) Schuebl. комплексной устойчивостью к бурой листовой и стеблевой ржавчине, мучнистой росе и темно-бурой листовой пятнистости обладает образец Белка (к-64408, РФ, Ленинградская обл.), устойчивостью к мучнистой росе к-10456 (РФ, Татарстан), к-18623 (Германия), Аджа (к-19208, Эфиопия), к-41928 (Германия). Испытанные образцы *T. polonicum* L.: к-9277 (Израиль), Кoko (к-62974, Сирия), Арабская (к-44059, Китай) высоко устойчивы к стеблевой ржавчине. Некоторые самарские сорта пшеницы твердой (*T. durum* Desf.) выделяются: по устойчивости к листовой бурой ржавчине сорт Безенчукская Степная (к-63778), по устойчивости к бурой ржавчине сорта: Безенчукская 200 (к-63766), Безенчукская Крепость (к-65951) и Марина (к-64517).

## СЕЛЕКЦИЯ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ В РОССИИ

Гультяева Е.И.

Всероссийский НИИ защиты растений, РФ, Санкт-Петербург-Пушкин, ш. Подбельского 3  
[eigultyaeva@gmail.com](mailto:eigultyaeva@gmail.com)

Бурая ржавчина – распространенное и значимое заболевание мягкой пшеницы во всех зонах ее возделывания. Селекция на устойчивость пшеницы к бурой ржавчине в России имеет длительную историю и проводится с начала 20 века. Для эффективной генетической защиты пшеницы важную роль играет разнообразие выращиваемых сортов по типам устойчивости и генам устойчивости (*Lr*-генам). Для выяснения возможного влияния растения-хозяина на изменчивость популяций патогена по вирулентности нами проводятся иммуногенетические исследования сортов пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений (<http://reestr.gossort.com>). Они включают лабораторную и полевую оценку устойчивости сортов пшеницы к возбудителю бурой ржавчины и идентификацию у них *Lr*-генов с использованием фитопатологического теста и молекулярных маркеров.

Показано существенное возрастание в районировании сортов яровой и озимой пшеницы устойчивых к бурой ржавчине в 2010 годах, по сравнению с предыдущим периодом. Определено, что доля яровых сортов с ювенильной устойчивостью, обусловленной высоко или частично эффективными олигогенами, в Госреестре составляет свыше 20%. У них выявлено широкое распространение генов распецифической устойчивости *Lr9*, *Lr19* и других чужеродных от *Aegilops speltoides* (*LrSp*) и *Agropyron intermedium* (*Lr6Agi1* и *Lr6Agi2*), неидентичных известным эффективным. Большинство сортов с геном *Lr19*, *Lr6Agi1* и *Lr6Agi2* возделывается в Поволжье, а с геном *Lr9* – на Урале и в Западной Сибири.

Ситуация с озимыми сортами несколько иная. Свыше половины изученных сортов, преимущественно рекомендованные для возделывания в Северо-Кавказском регионе, характеризовались определенным уровнем устойчивости в полевых условиях в фазах взрослых растений. В стадии проростков их тип реакции к бурой ржавчине менялся в зависимости от используемых клонов или популяций гриба от устойчивости до восприимчивости, что указывало на отсутствие у этих сортов высокоэффективных ювенильных *Lr*-генов. Молекулярный скрининг не выявил у них известных эффективных генов возрастной устойчивости (*Lr21*, *Lr35*). Только у одного озимого сорта Морозко (+*Lr1*) определен эффективный возрастной ген *Lr37*. С использованием молекулярных маркеров у устойчивых в полевых условиях озимых сортов выявлено широкое распространение малоэффективных ювенильных генов *Lr1*, *Lr10*, *Lr26* и гена частичной устойчивости (partial resistance gene) *Lr34*, которые встречались по отдельности или в разных сочетаниях. Можно предположить, что устойчивость этих сортов во взрослых фазах развития обеспечивается комбинацией генов с преодоленной эффективностью.

Полученные сведения о представленности *Lr*-генов в сортах пшеницы следует учитывать в региональных селекционных программах и при размещении новых генетически защищенных сортов.

## ОПЫТ АГРОЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ПАСПОРТИЗАЦИИ СОРТОВ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В НАЦИОНАЛЬНОМ ЦЕНТРЕ ЗЕРНА ИМЕНИ П.П.ЛУКЪЯНЕНКО

Кудряшов И.Н., Пономарев Д.А., Лысак Н.И., Беспалова Л.А.

ФГБНУ «НЦЗ им.П.П.Лукьяненко», Россия, г.Краснодар, 350012, п/о-12, Центральная усадьба КНИИСХ

[ipasport@rambler.ru](mailto:ipasport@rambler.ru)

В 90-е годы, в результате недостаточного финансирования, наблюдалось сокращение тематики научных исследований, которое затронуло и наше учреждение. Тем не менее в конце 1994 года в отделе селекции пшеницы в большом объеме были заложены опыты по агроэкологической оценке сортов. Вызвано это было увеличением возделываемых в производстве сортов, которые из-за слабой изученности биологических свойств неэффективно использовались. Отделом была изыскана возможность выделения 36 га земли для размещения восьмипольного севооборота, где пшеница высевалась по 4-м предшественникам. Основной целью новых для нашего отдела исследований, была агроэкологическая оценка сортов с целью их дальнейшего макро-, мезо- и микрорайонирования, как одного из факторов адаптивной интенсификации растениеводства, изложенной А.А.Жученко [1].

При планировании полевых опытов, были выбраны факторы, оказывавшие наибольшее влияние на важнейшие хозяйственно-ценные признаки: предшественники, сроки сева, азотные подкормки, фунгициды, нормы посева и др. В настоящее время ежегодно в многофакторных полевых опытах высевается 24 сорта озимой пшеницы на 38 агровариантах. Всего же за истекшие 24 года изучалось 132 сорта озимой мягкой пшеницы в 21486 сортоопытах на 85944 делянках.

Проводимые нами опыты позволили не только повысить эффективность возделывания сортов пшеницы, но и дают ценную информацию для селекции. Большой набор сортов и агроусловий, позволяет достоверно оценивать генотип-средовые взаимодействия, рассчитывать наряду с фенотипическими, экологические и генотипические взаимосвязи признаков. Ежегодное включение в опыты сорта шедевра Безостая 1, районированного в далеком 1959 году, показывает прогресс селекции практически за 60-летний период.

Актуальность и своевременность этой работы подтверждается увеличением количества возделываемых в производстве сортов. Если в 1995 году (закладка первых опытов по паспортизации сортов) в Реестре РФ по Краснодарскому краю было включено 13 сортов пшеницы мягкой озимой селекции нашего института, то в настоящее время их количество возросло до 80. Адресное, точное использование сортов озимой пшеницы без дополнительных затрат, может повысить ее урожайность на 10 и более центнеров с 1 га. Если в 1995 году урожайность озимой пшеницы в Краснодарском крае составила 32,0 ц/га, то в 2018 она выросла вдвое. Одним из важных факторов этого роста явилось точное использование сортов.

Литература

1. Жученко А.А., Ресурсный потенциал производства зерна / А.А.Жученко. – М.: ООО «Издательство Агрорус», 2004.- 1109 с.

## ПРОБЛЕМЫ УСТОЙЧИВОСТИ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР К НОВОМУ БАКТЕРИАЛЬНОМУ ПАТОГЕНУ ВИДА *XANTHOMONAS ARBORICOLA*

Кырова Е.И.<sup>1</sup>, Игнатов А.Н.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВИЗР, Россия, Санкт-Петербург, г. Пушкин, ш. Подбельского, д. 3, 196608;

<sup>2</sup>ИЦ «ФитоИнженерия» ООО, Московская обл., Дмитровский район, с. Рогачево, ул. Московская, стр. 58, 141880;

<sup>3</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6, 117198

[ekirova1911@yandex.ru](mailto:ekirova1911@yandex.ru)

Злаки, или растения сем. Мятликовые, включают важнейшие сельскохозяйственные культуры во всем мире. Размеры площадей под возделывание злаковых культур в мире составляют около 680 млн. га., из них на территории РФ - 42,7 млн. га. Основной процент площадей традиционно отдается ячменю и пшенице (более 75%). Одним из факторов, сдерживающих продуктивность сельскохозяйственного производства, является усиление вредоносности болезней растений и особенно бактериозов. Причина этого - передача бактериальных патогенов семенами и посадочным материалом, сложность правильной идентификации патогенов, отсутствие эффективных разрешенных бактерицидов и ограниченное число устойчивых к бактериозам сортов растений. В 2001-2008 гг. впервые в РФ был выделен новый бактериальный патоген злаков *Xanthomonas arboricola* (Vauterin et al, 1995), вызывающий поражение пшеницы, ржи, ячменя, овса. Симптомы болезней, вызываемых штаммами *X. arboricola* на этих растениях, не отличались от симптомов болезней, вызываемых специфичными представителями рода *Xanthomonas*. Для злаков они совпадали с симптомами черного бактериоза злаков (возб. *X. translucens*). Биохимические признаки выделенных из этих культур изолятов *X. arboricola* не отличались от типовых представителей этого вида. В основу контроля над новым патогеном должна лечь разработка новых методов идентификации, а так же поиск устойчивых сортов. В годы эпифитотий потери урожая на восприимчивых сортах могут превышать 40%. Ячмень поражается наиболее сильно, чуть меньше - рожь, пшеница и тритикале. Следует заметить, что исследования в области поиска устойчивых сортов практически не проводятся, а имеющиеся данные показывают отсутствие устойчивости злаков к штаммам *X. arboricola*. Таким образом не вызывает сомнений, что использование устойчивых сортов могло бы существенно снизить потери урожая от нового патогена, что необходимо учитывать при разработке систем защиты поражаемых *X. arboricola* злаков.

## АЛЛЕЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГЛИАДИНКОДИРУЮЩИХ ЛОКУСОВ ХРОМОСОМ ПЕРВОЙ ГОМЕОЛОГИЧЕСКОЙ ГРУППЫ В СЕЛЕКЦИОННОМ МАТЕРИАЛЕ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НЦЗ ИМ. П.П. ЛУКЪЯНЕНКО

Мельникова Е.Е., Букреева Г.И., Беспалова Л.А., Жук О.А.

ФГБНУ «НЦЗ им.П.П.Лукьяненко» Россия, Краснодар Центральная усадьба КНИИСХ.

[Mellen19@yandex.ru](mailto:Mellen19@yandex.ru)

Определение генетического разнообразия селекционного материала пшеницы по аллелям глиадинкодирующих локусов проводится ежегодно в лаборатории электрофоретического анализа. В 2003-2018 годы по аллельному составу глиадинкодирующих локусов с использованием метода электрофореза в крахмальном геле изучались от 853 до 1637 линий пшеницы в год.

Высокий полиморфизм аллелей глиадинкодирующих локусов отмечен по хромосоме 1А, с наибольшей частотой встречаемости по годам аллеля Gld-1A4 (34,5% - 48,8%).

Широкому внедрению этого аллеля способствовала научная селекция через сорта Безостая 1, Краснодарская 6, Ранняя12, Кавказ с вытеснением аллеля Gld-1A2 из генотипов, доминирующего в стародавних сортах. Частота встречаемости аллелей Gld-1A12 и Gld-1A14, связанных с высоким качеством зерна, невысокая для аллеля Gld-1A12 в 2017 г составляла 2,6% (сорта Память, Грация, Лебедь). Количество генотипов с аллелем Gld-1A14 в 2017 г увеличилось до 6,8% против 5,2% в 2011-2015 гг. (Сорта Лига 1, Веда).

С 2011г в селекционном материале увеличилось количество линий с ржаной транслокацией 1A1/1Rs с 0,6% 2003-2010 гг до 5,7% (2011-2016г.). Данный аллель идентифицирован в 54 линиях селекционного материала. Созданы сорта с транслокацией 1A1/1Rs Ахмат и Стил 18.

Для селекционного материала озимой пшеницы нашего центра характерна высокая частота встречаемости другой ржаной транслокации 1BL/1Rs, маркируемая аллелем Gld-1B3, с частотой встречаемости до 40% в 2003-2011гг. и 50% в 2017г. Эта транслокация вытеснила аллель Gld-1B1, идентифицированный в сорте Безостая 1, который преобладал в селекционном материале в 2003- 2010 гг. до 51%, а к 2017 г. снизился до 31%. Отрицательное влияние данной транслокации на качество снижается в присутствии аллелей Gld-1A4, Gld-1A14 и Gld-1D4.

Аллель Gld-1B2 (сорта Победа 50, Гром, Сила) также снижает частоту встречаемости с 14,7% (2011г) до 8,6%(2014 г), 5,6% (2015г), 9,1%.(2017г).

Аллель Gld-1D1 выявлен почти в 50 % (49,7 %) селекционных линий, проанализированных в 2011-2018 гг. Аллель Gld-1D4, связанный с высоким качеством зерна и нивелирующий отрицательное влияние ржаной транслокации 1B1/1Rs на качество, за годы исследований сохранял невысокую частоту встречаемости в среднем 15 % (Сорта Иришка, Грация, Лебедь, Память, Баграт и т.д.). Аллель Gld-1D5, связанный с высокой морозостойкостью на протяжении изучаемых лет имел стабильно низкую частоту встречаемости, в среднем 6%.

## СЕЛЕКЦИЯ ЯРОВОГО И ОЗИМОГО ТИПА РАЗВИТИЯ TRITICUM DICOCCUM (SCHRANKE) SCHUEBL

Мудрова А.А., Яновский А.С., Беспалова Л.А.

ФГБНУ «НЦЗ им.П.П.Лукияненко», Россия, г.Краснодар, 350012, п/о-12, Центральная усадьба КНИИСХ

[mudrova.alya@mail.ru](mailto:mudrova.alya@mail.ru)

По данным Всемирной организации здравоохранения, XXI век станет веком аллергии. Эта болезнь уже достигла планетарного масштаба и может в скором времени «поставить на колени» весь мир [1]. Помогут справиться с аллергией древние злаковые культуры с богатым генетическим потенциалом, имеющие в своем составе уникальные ценные белковые компоненты и микроэлементы. Одной из них является полба, возделывание которой в первую очередь будет направлено на повышение качества жизни нашего населения, соответствия этого показателя высоким мировым стандартам [2].

Для создания нового исходного материала нами выполнены межвидовые скрещивания *Triticum dicoccum* с *Triticum durum*. В гибридизацию были вовлечены лучшие линии и сорта яровой и озимой твердой пшеницы, яровой полбы. Для ускорения селекционного процесса гибриды F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> выращивали в теплице. После обмолота и визуальной оценки зерна в F<sub>3</sub> выделены пленчатые формы. Одна часть высевалась весной, другая - под зиму. В результате выявлена различная степень проявления хозяйственных признаков. Линии яровой полбы колосились 21 - 30 мая, имели высоту растений 56-88 см, урожайность 18,6-39,6 ц с 1 га. Параметры исходного сорта Руно соответственно 30 мая, 92 см, 21,5 ц с 1 га. В озимом посеве озимая полба колосилась 3-14 мая, высота растений варьировала от 70 до 90 см, урожайность 60,2-88,4 ц с 1 га. Параметры исходного сорта озимой твердой пшеницы Крупинка соответственно 10 мая, 90 см, 108,8 ц с 1 га. Из гибридной комбинации Лилек/к-13085 *Triticum dicoccum* выделена линия, которая в 2016 году под названием Янтара передана на Государственное сортоиспытание. Это пленчатая полба с желтым цветом зерна, более легким обмолотом, устойчивая к полеганию, высоким качеством зерна. В 2018 году в селекционных питомниках изучалось 340 семей яровой полбы и 129 озимой. Они характеризовались различным цветом зерна, пленчатостью от 80 до 95%, содержанием протеина свыше 20,0%. В 2019 году в конкурсном сортоиспытании посеяны линии озимой и яровой полбы. В гибридных популяциях продолжается отбор пленчатых форм, которые высеваются в соответствующих питомниках. Созданный селекционный материал превосходит сорт яровой полбы Руно по устойчивости к полеганию, продуктивности, имеет высокие показатели качества зерна, а по озимой полбе по урожайности близок к сортам озимой твердой пшеницы, превосходя их по качеству зерна.

Литературные источники

[1]. Темирбекова С.К., Ионов Э.Ф., Ионова Н.Э., Афанасьева Ю.В. Использование древних видов пшеницы для укрепления иммунной системы детского организма/С.К. Темирбекова и др.//Образование, наука и производство -№4 (9).-2014. С.21-25.

[2]. Боровик А.Н. Селекция и возвращение в культуру исчезающих и редких видов пшеницы: шарозерной, полбы, твердой и создание тритикале шарозерной для диверсификации производства высококачественного зерна / А.Н. Боровик: автор. дис. д. с.-х.наук.-Краснодар.-2016.- С. 358-375.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В СЕМЕНОВОДСТВЕ.

Мельникова Е.Е., Беспалова Л.А., Букреева Г.И., Новиков А.В., Агаев Р.А., Кузилова Н.М.

ФГБНУ «НЦЗ им.П.П.Лукашенко», Россия, г.Краснодар, 350012, п/о-12, Центральная усадьба КНИИСХ

[lena.agaeva.69@bk.ru](mailto:lena.agaeva.69@bk.ru)

В НЦЗ им. П.П. Лукашенко в качестве генетических маркеров для определения сортовой принадлежности и чистоты семян пшеницы мягкой, твёрдой, шарозёрной и тритикале, эффективно используются белковые маркеры (аллели глиадинкодирующих локусов, выявленные в результате электрофореза запасных белков). Предпочтение данных маркеров обусловлено их кодоминантным наследованием, множественным аллелизмом и независимостью от условий выращивания.

В Государственный реестр внесено 87 сортов мягкой и шарозёрной пшеницы, 13 сортов твёрдой пшеницы, 17 сортов тритикале и 2 сорта полбы. Семеноводство такого количества сортов и культур требует постоянного, строгого контроля подлинности и сортовой чистоты семян.

На стадии апробации посевов селекционеры выявляют фенотипически отличающиеся растения и передают их в лабораторию для идентификации. Все партии семян, поступающие на сортировку анализируются на принадлежность и сортовую чистоту, чтобы исключить возможное засорение на стадиях уборки, транспортировки, сортировки, хранения и т.д. Если партии семян не соответствуют нормам, они бракуются. В 2018 году проанализировано 201 партия семян пшеницы и тритикале.

Перед передачей сортов на ГСИ изучается их биотипный состав. Около 23% районированных краснодарских сортов пшеницы являются полиморфными, т. е. имеют не один, а несколько биотипов. Изучение биотипного состава сортов, позволяет при дальнейшем семеноводстве, отличить биотип от засорения. Наличие нескольких биотипов учитывается при идентификации сорта. Считается, что полиморфные сорта более пластичны, за счёт того, что различные биотипы по-разному могут реагировать на условия выращивания (сорта Таня, Гром и т.д.).

[1]. Неттевич, Э.Д. Характеристика отечественных сортов пшеницы по высокомолекулярным глютеинам зерна / Э.Д. Неттевич, А.И. Моргунов, Д.У. Роджерс, А.М. Беспалов, Е.В. Метакровский // Докл. ВАСХНИЛ. 1991. - № 7. - С. 2 - 5.

## ASSAYING THE QUANTITATIVE PCR FOR THE CHARACTERIZATION OF WINTER WHEAT VARIETIES TO FUNGAL GRAIN INFECTION

Orina A.S.<sup>1</sup>, Gagkaeva T.Yu.<sup>1</sup>, Gavrilova O.P.<sup>1</sup>, Ablova I.B.<sup>2</sup>, Beshalova L.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR), Russia, St-Petersburg-Pushkin

<sup>2</sup>National Center of Grain named after P.P. Lukyanenko, Krasnodar, Russia

[orina-alex@yandex.ru](mailto:orina-alex@yandex.ru)

The seed-borne infection directly affects the quality of the grain. Fusarium head blight (FHB) is one of the most destructive diseases of wheat in the south European part of Russia. The breeding of wheat varieties to FHB resistance is actively performed in the Krasnodar region.

In our study 17 winter wheat varieties were grown in the Krasnodar region under the natural infections. TaqMan and SYBR Green real-time PCR was used for quantification of DNA of dominant fungi in the complex infection of harvested grain – *Alternaria*, *Microdochium* and *Fusarium* fungi. The fungal DNA content was represented as a proportion of the wheat DNA content (pg/ng).

Abundant presence of *Alternaria* fungi was detected in range 1.5–4.0 pg/ng without a significant difference between the varieties. A quantitative detection of the *Microdochium* revealed that the content of *M. nivale* DNA (0.06–0.93 pg/ng) was on average 3 times higher than the content of *M. majus* DNA (0.04–0.20 pg/ng). A high amount of DNA of the tricothecene producing *Fusarium* (Tri-*Fusarium*) was found in the grain of the varieties in range 0.14–0.42 pg/ng. Additionally, the DNA content of the most aggressive pathogen *F. graminearum* was assessed, and its value varied significantly from 0.01–0.43 pg/ng.

The proportion of *F. graminearum* DNA as a percentage of the DNA of Tri-*Fusarium* fungi ranged from 6.1% to 100.9%. This value can be used as the characteristic of plant resistance to FHB. According to our observations, value above 30% means the susceptibility of varieties to fungal infection, and the smaller proportion of DNA is inherent for varieties that are more resistant to fungal disease. Consequently, all the analyzed varieties were distributed into three groups. The first group of varieties with a low ratio of *F. graminearum* DNA in Tri-*Fusarium* fungi (no more than 10%) consisted of Adel, Tanya, Lebed', Kurs, Gurt and Yuka varieties that can be classified as the relative resistant.

The investigation was supported by the Russian Science Foundation (No. 14-26-00067).

## ОТДАЛЕННАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ В СОЗДАНИИ УЛЬТРАСКОРОСПЕЛЫХ ФОРМ ПШЕНИЦЫ

Пузырная О.Ю., Беспалова Л.А., Агаева Е.В., Набоков Г.Д., Новиков А.В., Тархов И.С.,

*ФГБНУ «НЦЗ им.П.П. Лукьяненко», Россия, г.Краснодар, 350012, п/о-12, Центральная усадьба КНИИСХ*

*ivan.tarkhov.88@mail.ru*

Продолжительность вегетационного периода очень важный биологически адаптивный и хозяйственно - ценный признак для селекции пшеницы. С ним связано несколько других свойств, определяющих «уход» от засухи, устойчивость к болезням, урожайность и качество зерна [1]. Академиком П.П.Лукьяненко (1932) была выявлена отрицательная корреляция между урожайностью и длиной вегетационного периода. С учетом этих закономерностей селекция озимой пшеницы на Кубани была направлена на выведение разновременн созревающих, устойчивых к полеганию сортов с высоким качеством зерна.

В настоящее время, возделывающиеся в крае сорта различаются по продолжительности вегетационного периода на 14 дней. Это позволяет получать высокую урожайность при изменяющихся погодных условиях уменьшив потери от перестоя, сохранить урожай и качество зерна.

Очень скороспелый (ультраскороспелый) сорт Юбилейная 100 созревает за 232-235 суток, включая зимний период. Используя межродовую гибридизацию (пшеница / рожь // пшеница и тритикале / пшеница // F1 пшеница / пшеница) в системе сложной ступенчатой гибридизации нам удалось создать селекционный материал с вегетационным периодом еще на 7 суток (225-228) короче, чем у сорта Юбилейная 100.

Новый селекционный материал характеризуется сочетанием короткостебельности, хорошей зимостойкости, высоким качеством зерна. По урожайности не уступает стандартному сорту.

[1]. Пучков Ю.М. Селекция ультраскороспелых сортов озимой пшеницы для Кубани / Ю.М. Пучков, Г.Д. Набоков, И.Н. Кудряшов, Т.Ф. Солярек, Н.П. Фоменко //Основные итоги научно-исследовательской работы (1947-1997 гг.). - Краснодар. -1997. - С. 34-50.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ УСТОЙЧИВОСТИ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР К НАСЕКОМЫМ

Радченко Е.Е.

*Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44*  
*[eugene\\_radchenko@rambler.ru](mailto:eugene_radchenko@rambler.ru)*

Устойчивость кормовых растений – один из основных факторов, определяющих микроэволюционные процессы в популяциях насекомых, питающихся на зерновых культурах. Для большинства экономически важных фитофагов характерно дифференциальное взаимодействие с генотипами хозяина. Следовательно, целесообразная стратегия селекция зерновых на устойчивость к вредителям предусматривает расширение генетического разнообразия возделываемых сортов. Взаимодействие насекомых с растениями подчиняется отношениям «ген для гена». Для генов устойчивости растений характерны тесное сцепление и множественный аллелизм. Реализующийся генотип растения зависит от биотипа фитофага – т.е. у одного и того же сорта в разных ареалах вредителя могут проявляться и разные гены устойчивости. Гены устойчивости различаются в отношении стабильности проявления. В «вертикальных» системах взаимодействия всегда присутствуют малые гены устойчивости и вирулентности, а часто достаточно высокий уровень устойчивости к вредителям может контролироваться лишь малыми генами. Длительность сохранения сортами устойчивости не связана ни с ее фенотипическим проявлением, ни с числом генов устойчивости. Одним из объяснений феномена длительно сохраняющейся устойчивости служит существование связи мутации вирулентности с жизнеспособностью вредного организма. Выявлены растительные белки, обладающие пестицидной активностью; обсуждается роль вторичных метаболитов растений. Генетический контроль биосинтеза ряда защитных соединений хорошо изучен. Устойчивость злаков к вредителям связывают с реакцией сверхчувствительности. Самый обширный класс генов, определяющих устойчивость растений к фитопатогенам и вредителям, составляют гены, кодирующие белки с сайтом связывания нуклеотидов (NBS) и регионом обогащенных лейцином повторов (LRR). Взаимодействие фитопатогенов и фитофагов с растениями состоит из одних и тех же этапов. В обоих случаях взаимодействуют две сопряженно эволюционирующие системы, и, вследствие этого, особенности фенотипического проявления генов устойчивости растений к вредным организмам расспецифичны. Специфика системы «растение – насекомое» обусловлена активной ориентацией вредителей в окружающей среде. Кроме того, в большинстве случаев микроэволюционные процессы в популяциях фитофагов идут значительно медленнее по сравнению с популяциями возбудителей заболеваний. Поэтому анатомо-морфологические особенности растений, в отличие от фитопатогенов, обеспечивают в ряде случаев феноменально длительную устойчивость.

## ВЫЯВЛЕНИЕ ЛОКУСОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ К ТЕМНО-БУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ, НА ОСНОВЕ АССОЦИАТИВНОГО КАРТИРОВАНИЯ

Розанова И.В.<sup>1</sup>, Лашина Н.М.<sup>2</sup>, Ефимов В.М.<sup>1</sup>, Афанасенко О.С.<sup>2</sup>, Хлесткина Е.К.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики СО РАН», Россия, Новосибирск, Лаврентьева, 10

<sup>2</sup>ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», Россия, Санкт-Петербург, г. Пушкин, ш. Подбельского, д. 3

<sup>3</sup>Федеральный исследовательский центр «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова». Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44  
[bykova@bionet.nsc.ru](mailto:bykova@bionet.nsc.ru)

**Цели:** Темно-бурая пятнистость, вызываемая патогеном *Cochliobolus sativus*, и сетчатая пятнистость, вызываемая патогеном *Pyrenophora teres* F. *teres* это две широко распространённые и вредоносные болезни ячменя. Выявление генетических локусов, ассоциированных с сопротивляемостью как к *C. sativus*, так к *P. teres* F. *teres* важная задача для маркер ориентированной селекции. Целью настоящей работы является выявление локусов, ответственных за сопротивляемость проростков к различным патогенам *C. sativus* и *P. teres* F. *teres* в Сибирской коллекции ярового ячменя.

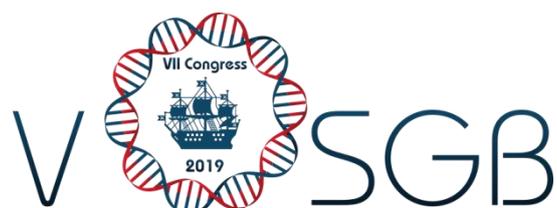
**Методы:** Была создана коллекция из 96 сортов и линий ярового ячменя. Все 96 сорта были профенотипированы на стадии проростков к двум изолятам *C. sativus* (Kr2 и Ch3) и к четырем изолятам *P.teres* (S 10.2, K 5.1, P 3.4.0, A 2.6.0). Около 42% - 47% и 15% - 40% генотипов были устойчивы к темно-бурой и сетчатой пятнистостям соответственно. Для 94 сортов было проведено генотипирование на чипе Illumina Infinum с 50 тысячами маркеров, из которых 27,319 SNP (62%) прошли контроль по качеству и были использованы для ассоциативного картирования. Данные обрабатывались с помощью программ Microsoft Excel, Tassel 5, PASS и пакета R.

**Результаты:** Анализ данных с помощью GLM выявил 3 и 27 SNP для изолятов темно-бурой пятнистости Kr2 и Ch3 соответственно, и 5, 2, 28 и 2 SNP для изолятов сетчатой пятнистости S10.2, K5.1, P3.4.0, A2.6.0 соответственно. Всего три геномных региона были ассоциированы с сопротивляемостью к темно-бурой пятнистости на хромосомах 1Н, 2Н, 3Н и семь с сопротивляемостью к сетчатой пятнистости на хромосомах 1Н, 2Н, 3Н и 6Н.

Значимые SNP, выявленные в настоящей работе могут быть использованы в разработке ПЦР-маркеров для более динамичной селекции устойчивых сортов ячменя.

**Благодарности:** Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №16-14-00086.

\*\*\*\*\*



**ИНФОРМАЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ  
СПОНСОРОВ  
VII Съезда ВОГиС**

**INFORMATION PAGES  
OF THE VII VSGB CONGRESS  
SPONSORS**

Фото  
разрез зерна шелководы  
в многократном увеличении

## Соединяем науку и практику

Раскрываем потенциал культур –  
повышаем урожайность!

- Достижения с вековым опытом
- Работа с лучшими мировыми г.в.
- Максимальная чистота сырья
- Современные препаративные формы
- Агросопровождение от посева до уборки



ЩЕЛКОВО  
АГРОХИМ

[www.betaren.ru](http://www.betaren.ru)

## ООО Диаэм

Компания **Диаэм** – крупнейший поставщик современного лабораторного оборудования на Российском рынке для биологических и медицинских лабораторий. Каталог **Диаэм** насчитывает более 500 000 наименований приборов, реагентов и расходных материалов.

В портфолио **Диаэм** представлена продукция ведущих мировых производителей: Abcam, Affimetrix, Applied Biosystems, Binder, BiOptic, Bio-Rad, Corning, Eppendorf, Illumina, Ion Torrent, Lexogen, Omixon, **Oxford Nanopore**, Panasonic (Sanyo), Sage Sciences, Sigma-Aldrich, Thermo Fisher Scientific, Qiagen.



- Среды и реагенты для кариотипирования, компьютерный анализ хромосом и FISH.
- Хромосомный микроматричный анализ для генетического скрининга в онкологии, пре- и постнатальной репродуктологии, скрининга доноров, клинически значимого анализа экзема, CNV, фармакогеномики.
- Наборы для подготовки библиотек, секвенирования NGS; панели NGS для исследовательских работ, онкологии, изучения наследственных болезней, преимплантационного генетического скрининга на анеуплоидии и моногенные наследственные заболевания, HLA-типирования.



- Реагенты и наборы для капиллярного секвенирования по складской программе.
- Секвенаторы капиллярные и высокопроизводительные NGS, оборудование для анализа качества НК для NGS, роботизированные станции подготовки библиотек и секвенирования.
- Все для ПЦР, реагенты, наборы, пластик, амплификаторы.
- Решения для клеточной терапии и редактирования генома.
- Нанопоровые секвенаторы **Oxford Nanopore**, наборы для секвенирования ДНК и РНК.



**Диаэм** обеспечивает молекулярно-генетический сервис: выделение и очистка ДНК, РНК, клонирование, экспрессия генов, нанопоровое секвенирование.

## ООО «Диаэм»

Москва

ул. Магаданская, д. 7, к. 3 ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ sales@dia-m.ru

www.dia-m.ru

**Новосибирск**  
пр. Академика  
Лаврентьева, д. 6/1  
тел.  
(383) 328-0048  
nsk@dia-m.ru

**Казань**  
ул. Парижской  
Коммуны, д. 6  
тел.  
(843) 210-2080  
kazan@dia-m.ru

**С.-Петербург**  
ул. Профессора  
Попова, д. 23  
тел.  
(812) 372-6040  
spb@dia-m.ru

**Ростов-на-Дону**  
пер. Семашко, д. 114  
тел.  
(863) 303-5500  
rnd@dia-m.ru

**Пермь**  
Представитель  
тел.  
(342) 202-2239  
perm@dia-m.ru

**Воронеж**  
Представитель  
тел.  
(473) 232-4412  
voronezh@dia-m.ru

**Армения**  
Представитель  
тел.  
(094) 01-0173  
armenia@dia-m.ru

**Узбекистан**  
Представитель  
тел.  
(90) 354-8569  
uz@dia-m.ru



Компания «ХИММЕД» с 1991 года является крупнейшим поставщиком химических и биохимических реактивов, лабораторного и аналитического оборудования на российском рынке. Мы являемся официальными дилерами мировых лидеров в области производства тонкой химии и оборудования: Thermo Fisher

Scientific, Merck Millipore, Bio-technie, neoFroxx.

«ХИММЕД» поставляет материалы и оборудование любой категории сложности, необходимые для работы в следующих областях знаний:

- молекулярная биология;
- геномика;
- протеомика (в т. ч. 2D-электрофорез);
- экспрессия и очистка белков;
- ДНК / РНК выделение, очистка, анализ;
- технологии РНК интерференции;
- полимеразная цепная реакция (рутинная ПЦР);
- qPCR, RT-PCR;
- секвенирование (по Сэнгеру, NGS)
- канцерогенез;
- культура клеток & трансфекция;
- культура тканей (2D, фидерные системы, 3D);
- проточная цитометрия;
- технологии стволовых клеток;
- технологии биочипов (Affimetryx, GeneChip™, Axiom™, OpenArray™);
- праймеры/маркеры/селективные красители;
- микробиология (среды, добавки);
- гельдокументирование/микроскопия (системы визуализации EVOS);
- культивирование растительных клеток и тканей;
- производственные биопроцессы;
- высокопроизводительный скрининг;
- автоматизация и рабочие станции.



### **Мы можем предоставить демоверсии приборов в вашу лабораторию!**

Собственная сеть логистики позволяет нам осуществлять регулярные поставки грузов между нашим складом в Германии и складом в Москве со строгим соблюдением условий транспортировки и хранения химической и биологической продукции, в т. ч. глубокого и длительного замораживания от  $-20^{\circ}$  до  $-80^{\circ}\text{C}$ , а также  $-140^{\circ}\text{C}$  и  $-196^{\circ}\text{C}$ . Мы берём на себя все заботы по таможенному оформлению грузов.

Мы всегда готовы к взаимовыгодному сотрудничеству и надеемся, что наша компания станет незаменимым помощником в вашей работе.

#### **Контакты:**

**Москва, 115230, Каширское шоссе, д. 9, корп. 3. +7 (495) 728 4192, [bio@chimmed.ru](mailto:bio@chimmed.ru)**

**Санкт-Петербург, 195248, пр. Энергетиков, 19, оф. 314. +7 (812) 605 0061, [spb@chimmed.ru](mailto:spb@chimmed.ru)**

**Казань, 420081, ул. Седова, д. 22. +7 (843) 273 6761, 272 9786, [kazan@chimmed.ru](mailto:kazan@chimmed.ru)**

**Новосибирск, 630090, пр. Академика Лаврентьева, 6/1. +7 (383) 335 6108, [sibir@chimmed.ru](mailto:sibir@chimmed.ru)**

**[www.chimmed.ru](http://www.chimmed.ru)**



**Бренд Bisolbi объединяет группу компаний биотехнологической отрасли (ГК Бисолби),** занимающуюся разработкой и реализацией решений для сельскохозяйственного производства. Основные продукты относятся к биопестицидам, микробиологическим удобрениям и стимуляторам роста.

За научное направление отвечает **ООО «Бисолби-Интер»**, основанное в 2000 году на базе лаборатории технологии микробных препаратов ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. Его основной задачей является проведение прикладных исследований, отработка массового производства микроорганизмов, а также разработка новых и совершенствование выпускаемых препаратов. Пилотное оборудование предприятия позволяет масштабировать технологии от лабораторного до промышленного уровня, а так же производить небольшие партии особо чистых препаратов.

Совместно с ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, и другими профильными учреждениями, компания занимается научной и инновационной деятельностью, выступает разработчиком, заказчиком и исполнителем многочисленных научных проектов. Сотрудничество с крупнейшими биотехнологическими центрами мира позволяет отбирать самые актуальные, прорывные направления для последующего изучения и коммерциализации.

Объем реализуемой продукции составляет **500-700 тонн в год** и производится на сторонних биотехнологических предприятиях по аутсорсингу. При этом осуществляется авторский и технологический контроль всех стадий производства с выездом специалистов на производственные площадки.

Внедрением инновационных разработок, промышленным производством и агрономическим сопровождением с 2013 года занимается отдельное структурное подразделение - компания **ООО «Бисолби Плюс»**. На **2019 год линейка компании представлена двумя микробиологическими удобрениями – Экстрасол, БисолбиПлант и двумя биопестицидами – БисолбиСан, БисолбиЦид.**



Предприятие «Экос» было основано в 1965 году, как экспериментально-производственное предприятие при Всесоюзном научно-исследовательском институте сельскохозяйственной микробиологии. Производство специализируется на промышленном выпуске микробных препаратов для сельского хозяйства, которые повышают урожайность и качество получаемой продукции.

В настоящее время предприятие производит:

- инокулянты группы «Ризоторфин» для бобовых культур (соя, горох, нут, люпин, люцерна, козлятник, вика, бобы, клевер, лядвенец, чина, чечевица и т.д.);
- биофунгициды;
- микробные стимуляторы роста.

Организация предлагает аграриям следующие виды сотрудничества:

- производство микробиологических препаратов для всех видов сельскохозяйственных культур;
- научное агрономическое сопровождение;
- экспертиза отечественной и зарубежной биопродукции;
- проведение обучающих семинаров в области АПК по использованию микробиологических препаратов в сельском хозяйстве.

Предприятие работает в таких эксклюзивных направлениях, как производство сортонаправленных биопрепаратов для бобовых культур, участвует в отраслевой программе «Развитие производства и переработки сои в Российской Федерации на 2015-2020 годы». Ежегодно принимает участие во многих региональных, всероссийских и зарубежных выставках, научных и производственных конференциях.

В числе постоянных клиентов — как крупнейшие агропромышленные холдинги, так и большие и средние сельхозпредприятия, крестьянско-фермерские хозяйства, индивидуальные предприниматели.

В результате этой многолетней работы микробиологические препараты, разработанные ФГБНУ ВНИИСХМ и произведенные на мощностях предприятия заслужили авторитет у работников АПК России и стран СНГ и неизменно доказывают свою эффективность и надежность.



helicon

Компания Хеликон -  
поставщик передовых  
технологий для геномных  
исследований

# НОВАЯ СТУПЕНЬ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМИКИ

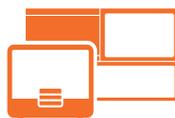


## QIAGEN

эталон в выделении и очистке  
нуклеиновых кислот



качественные и  
доступные реагенты  
для всех этапов  
молекулярно-  
биологических  
исследований



точное и надёжное  
оборудование для  
генетического  
анализа



широкий  
ассортимент  
специализированного  
пластика и расходных  
материалов

华大基因  
BGI

MGI  
华大智造

## MGISEQ

новый «Золотой стандарт»  
полногеномного секвенирования

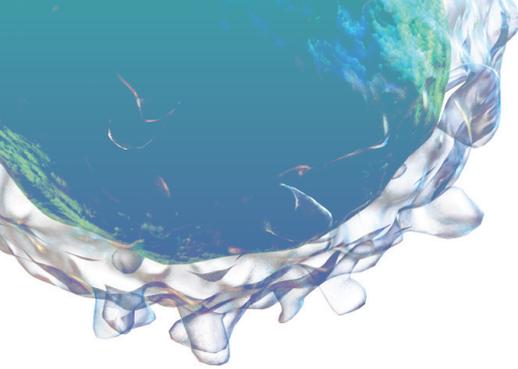
121374, Москва  
Кутузовский проспект, 88

8 (800) 770-71-21

Звонок по России  
бесплатный

[www.helicon.ru](http://www.helicon.ru)





**BIOCAD — международная инновационная биотехнологическая компания, объединяющая научно-исследовательский центр мирового уровня, современное фармацевтическое производство, передовую систему доклинических и клинических исследований.**



8 зарубежных офисов  
4 производственные площадки, >40 лабораторий



58 препаратов в портфеле, из них 16 — биологические



Более 40 препаратов в разработке



2200 сотрудников, более 40% из них — научные сотрудники



32 года — средний возраст сотрудников



Экспорт в 21 страну мира

## BIOCAD — №1 в сегменте противоопухолевых препаратов\*

Наша миссия — улучшение и продление жизни людей посредством предоставления эффективных, безопасных и доступных комплексных решений в области наук о жизни.

### CHEMNEXT

Проект по созданию революционных препаратов на основе оригинальных химических субстанций.

### MOABNEXT

Уникальный для России и мира проект по созданию инновационных лекарственных препаратов на основе моноклональных антител для лечения онкологических и аутоиммунных заболеваний.

### GENENEXT

Современный проект по созданию передовых препаратов генной терапии.

\*Первое место на рынке противоопухолевых препаратов с долей 15,9% в 2018 году по данным IMS Health

# macrogen

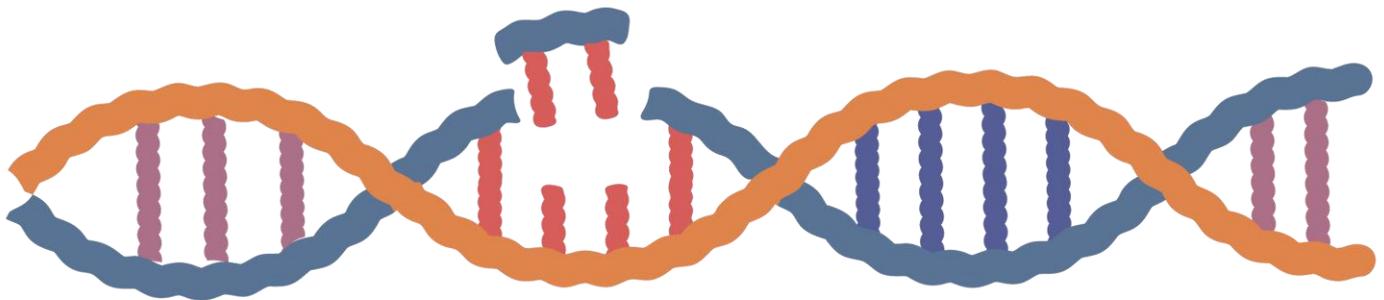


## Your Best Sequencing Partner

Macrogen provides wide range of sequencing and bioinformatics services to academic, pharmaceutical and clinical research institutions around the world. Established in 1997, Macrogen has expanded to service more than 18,000 customers in 153 countries. With over 20 years of experience in genomics, Macrogen is playing a leading role in the area of sequencing (Sanger, NGS), Biochip analysis (Microarray), Oligo synthesis, Genetically engineered mice (GEM), precision medicine.

Currently, we are in a promotion for the application below. Please contact us ([ngs@macrogen.eu](mailto:ngs@macrogen.eu)) to receive our competitive promotion price:

- TruSeq DNA PCR Free Library for hWGS
- SureSelect Human All Exon V7 for hWES
- TruSeq Stranded mRNA Library for RNA-seq
- Illumina NovaSeq 6000 150bp Paired End Sequencing



## Quality Management



### Technologies

NovaSeq 6000  
 HiSeq X Ten  
 HiSeq 2500 / 4000  
 NextSeq 500  
 MiSeq  
 10X Genomics  
 PacBio RS II / Sequel  
 Ion PGM / Proton

### Bioinformatics

*De novo* Assembly  
 Reference Mapping  
 Variant Calling (SNP/InDel)  
 CNV & SV  
 Gene Expression  
 Functional Annotations

### Applications

Whole Genome Sequencing  
 Long Read Sequencing  
 Exome Sequencing  
 Targeted Sequencing  
 Transcriptome Sequencing  
 Epigenome Sequencing  
 Metagenome Sequencing



Overview of Macrogen's NGS Research Applications and Platforms



## Полный спектр решений молекулярно-генетических задач в области генотипирования и селекции вместе с Thermo Fisher Scientific

Анализ экспрессии генов растений и животных

Секвенирование генома растений и животных

Генотипирование растений и животных

Генная инженерия

ГМО тестирование

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC



*Системы экстракции нуклеиновых кислот KingFisher*



*Серия амплификаторов в реальном времени QuantStudio*

Подробнее на сайте [www.qvadosbio.ru](http://www.qvadosbio.ru)  
или у специалистов компании Qvados-Bio  
8(495)981-80-35  
[info@qvadosbio.ru](mailto:info@qvadosbio.ru)

**QVADOS**  **Bio**

## Компания SkyGen – официальный дистрибьютер продукции ведущих мировых брендов

8 (800) 333-12-26, [info@skygen.com](mailto:info@skygen.com), [www.skygen.com](http://www.skygen.com)

Уже более 6 лет компания SkyGen поставляет оборудование, реагенты и расходные материалы для исследований в области life sciences, а также биотехнологических и фармакологических производств. За это время нашими партнерами стали более 3000 лабораторий России и стран СНГ.



Для каждого клиента мы стремимся подбирать комплексное и оптимальное решение научной задачи: от дизайна эксперимента до интерпретации данных.

Важное значение компания SkyGen придает научной и сервисной поддержке своих покупателей. Наши квалифицированные специалисты помогут вам запустить сложное оборудование и реализовать нестандартные протоколы исследований. Воспользовавшись услугами нашей сервисной службы, вы сможете откалибровать и поверить ваши средства измерения, а также валидировать чистые помещения и широкий спектр приборов.

Команда SkyGen никогда не останавливается в своем развитии и отслеживает все новые научные тенденции, чтобы предлагать вам самые передовые технологии и решения. Ведь наша цель – успех исследований наших партнеров.



**New England Biolabs\*** (США): 285 эндонуклеаз рестрикции, реагенты для клонирования, ПЦР/ОТ-ПЦР/реал-тайм ПЦР, NGS-пробоподготовки, редактирования генома, выделения и очистки НК, экспрессии белков, клеточного анализа, гликобиологии и др.



**Agilent Technologies**

**Agilent Technologies** (США): биоанализаторы нуклеиновых кислот и белков 4150/4200 TapeStation, 2100 Bioanalyzer, ZAG, Femto Pulse, амплификатор для ПЦР SureCycler 8800 и реал-тайм ПЦР AriaMx, автоматизированная станция для дозирования жидкостей Bravo, реагенты для молекулярной биологии и панели для целевого обогащения перед NGS и др.



**10X Genomics\*** (США): уникальная система пробоподготовки к высокопроизводительному анализу генома, экзона, транскриптома, CNV и др. единичных клеток методом NGS на платформе Illumina.



**Oxford Nanopore Technologies** (Великобритания): нанопоровые секвенаторы ДНК и РНК MinION, GridIONx5, PromethION 24/48.



**Qiagen** (Германия): наборы для выделения НК и белков, реагенты для клонирования, ПЦР РНК-интерференции, работы с белками и др., автоматические станции для выделения QIAcube и QIASymphony, гомогенизаторы, амплификатор для реал-тайм ПЦР Rotor-Gene Q, система дозирования жидкостей QIAgility и др.

Также в нашем портфолио вы найдете продукцию компаний **Nimagen\*** (альтернативные реагенты для секвенаторов ABI), **Bio Molecular Systems\*** (амплификатор для реал-тайм ПЦР с индукционным нагревом), **BioSan** (общелабораторное оборудование), **Sigma-Aldrich** (химические реактивы), **BioPointe Scientific\*** (пластиковые расходные материалы) и др.

*\*Эксклюзивное дистрибьютерство*

Компания более 16 лет осуществляет оснащение клинико-диагностических, научно-исследовательских, ветеринарных и криминалистических лабораторий современным оборудованием, наборами реагентов и расходными материалами для молекулярно-биологических исследований, медицинской генетики и полногеномного секвенирования.

## ► КОМАНДА

высококвалифицированных специалистов

## ► ШИРОКАЯ СЕТЬ

представительств в России, СНГ и странах дальнего зарубежья

## ► СЛУЖБА КЛИЕНТСКОЙ ПОДДЕРЖКИ

и сервисного обслуживания по всей России и странах СНГ

## ► ОБУЧЕНИЕ

на базе ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора с выдачей государственных документов о повышении квалификации

Продуктовый портфель компании представлен ведущими российскими и мировыми брендами: **AmpliSens™ (Россия), Hamilton (Швейцария), Thermo Fisher Scientific (США), Axygen (США), AmpliPrime (Россия), Аптака (Италия).**

ООО "ИЛС"

Россия, 115035, г. Москва, ул.Садовническая, д.20/13, стр.2

Тел.: +7 (495) 664 28 84; факс: +7 (495) 664 28 89

[www.interlabservice.ru](http://www.interlabservice.ru)

