

**VII МЕЖДУНАРОДНАЯ ШКОЛА
МОЛОДЫХ УЧЁНЫХ
ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКЕ
«ГЕНОМИКА И БИОЛОГИЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ»**

**Геномика и биология
живых систем**



**14.11 - 18.11
2016**

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

14-18 ноября 2016 г.

МОСКВА – ЗВЕНИГОРОД

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ИНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ РАН**

**VII МЕЖДУНАРОДНАЯ ШКОЛА
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ
ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКЕ
«ГЕНОМИКА И БИОЛОГИЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ»**

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Школа проводится при финансовой поддержке:

**Благотворительного фонда
«Будущее молекулярной генетики»
Российского фонда фундаментальных исследований
ЗАО «Синтол»
ООО «Бионем»
ООО «Компания ГенЭра»
ЗАО «Акрус»
ООО «Рош Диагностика Рус»**

14-18 ноября 2016 г.

Москва – Звенигород

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

Председатель Оргкомитета: Е.Д. Свердлов, академик РАН

Зам.председателя Оргкомитета: С.В. Костров, член-корреспондент РАН

Н.Ф. Мясоедов, академик РАН

Секретарь Оргкомитета: С.А. Лимборская

М.А. Мокульский, советник РАН

В.А. Гвоздев, академик РАН

П.А. Сломинский

И.В. Спорыхина

Л.В. Дергунова

М.И. Шадрина

А.В. Хрунин

Л.Е. Андреева

Б.О. Готов

Н.П. Матвеева

С.Ю. Элькина

VII Международная школа молодых ученых по молекулярной генетике
«Геномика и биология живых систем» (14-18 ноября 2016 г., Звенигород, Россия).

Тезисы докладов. – М.: ИМГ РАН, 2016. – 65 с.

Подписано в печать: 10.11.2016

Тираж: 250 экз.

Тезисы устных докладов

1. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ lncRNA В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ И АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА ГЕНОВ РАСТЕНИЙ

Глушченко О.Е.¹, Хазигалеева Р.А.², Шашкова Т.И.³, Фесенко И.А.²

¹Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия; ²Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия; ³Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

E-mail: glushschenko.oksana.it@gmail.com

Изучение механизмов, регулирующих экспрессию генов крайне важно и интересно. Регуляция экспрессии генов может быть связана как с изменением уровня транскрипции гена, так и за счет пост-транскрипционных модификаций. В нашем исследовании изучалась роль длинный некодирующих РНК и использовались данные транскрипционного профилирования двух жизненных форм (ювенильная стадия, протонема, и зрелая, гаметофоры) мха *Physcomitrella patens*, а также его протопластов для изучения принципов регуляции работы генов. Транскрипты были собраны биоинформатическим инструментом Cufflinks после картирования TopHat. С целью оценить роль lncRNA в регуляции экспрессии и альтернативном сплайсинге генов, мы проанализировали РНК: РНК взаимодействия между некодирующими транскриптами и мРНК мха. В результате было идентифицировано таких взаимодействующих пар 224 и только около половины из них являются антисенс по отношению друг к другу. При этом 40 генов, с которыми взаимодействуют lncRNA, относятся к дифференциально-экспрессирующимся - у 24 уровень транскрипции меняется при сравнении протонемы и гаметофоров; 12 - протонемы и протопластов. Более того, 91% генов, участвующих во взаимодействиях, имеют две и более изоформы. Также мы проверили связь между уровнем транскрипции интронов мРНК и взаимодействующими с ними lncRNA в трех типах клеток - гаметофорах, протонеме и протопластах, для этого использовали коэффициент корреляции Спирмана. Мы обнаружили высокую степень корреляции ($r > 0,8$, $p\text{-value} < 0,05$) между включением определенных интронов в мРНК и транскрипцией связанных с ними lncRNA для 11 генов.

2. ПОИСК НОВЫХ ПРОНИКАЮЩИХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ МОРСКОЙ АНЕМОНЫ *CNIDOPUS JAPONICUS*

Графская Е.Н.^{1,2}, Бабенко В.В.², Аниканов Н.А.², Бобровский П.А.², Харлампиева Д.Д.², Полина Н.Ф.²

¹Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия; ²Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия

E-mail: grafskayacath@gmail.com

Проникающие антимикробные пептиды (ПАМП) убивают патогенные микроорганизмы, в том числе, внутриклеточные, не вызывая лизис клеточной мембраны. Механизмы действия подобных молекул связаны с нарушением биосинтеза белка, нуклеиновых кислот, индукцией апоптоза, разрушением митохондрий и т.д.

В данной работе представлены результаты биоинформатического анализа транскриптома морской анемоны *Cnidopus japonicus* с целью поиска новых проникающих антимикробных пептидов. С использованием программы BLAST были определены последовательности, гомологичные известным ПАМП. Далее были отобраны последовательности пептидов согласно параметрам, характерным для проникающих пептидов: физико-химическим свойствам, наличию определенных аминокислотных остатков — аргинина, пролина, лизина. Наличие пролиновых мотивов, типичных для ПАМП, определялось с помощью алгоритма Pratt. Полученные последовательности были верифицированы с использованием протеомных данных. Для кандидатных последовательностей были оценены их проникающая способность и антимикробный потенциал с помощью различных предикторов CellPPD, CPPpred, ADAM, CAMP и алгоритма AMPA.

К настоящему моменту нами получены списки кандидатных пептидов, которые способны проникать в эукариотическую клетку, не вызывая ее гибели, но обладающих, при этом, антимикробной активностью в отношении внутриклеточных патогенов.

Поддержано грантом РФФИ № 16-34-00936 мол_а.

3. ОТБОР ГЕНОМНЫХ АКТИВАТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ В КЛЕТКАХ ЛИНИИ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ MIA PaCa-2

Дидыч Д.А., Буланенкова С.С.

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

E-mail: dmitry_D@inbox.ru

Получение библиотек геномных активаторов транскрипции (энхансеров и промоторов) необходимо для понимания фундаментальных механизмов функционирования этих элементов вне их нативного контекста, а также для создания искусственных систем экспрессии генов, широко применяемых в биологии и биомедицине, например, в генной терапии. В работе проведен отбор геномных активаторов транскрипции среди фрагментов ДНК, полученных с помощью иммунопреципитации хроматина (ChIP) клеток линии MIA PaCa-2 с антителами к ацетилованному гистону H3 (H3K27ac). Принцип отбора основан на способности энхансеров и, в некоторых случаях, промоторов усиливать активность минимального промотора цитомегаловируса (CMV), контролирующего экспрессию гена GFP, в составе лентивирусного вектора в трансдуцированных клетках. Фрагменты ChIP ДНК были клонированы в сконструированную нами лентивирусную плазмиду. Был получен пул плазмид, содержащий около 20 млн. фрагментов ChIP ДНК. Была проведена трансдукция клеток MIA PaCa-2. С помощью FACS-сортировщика было отобрано две популяции GFP-позитивных клеток: с высоким (популяция P3) и низким (популяция P4 – контроль) уровнем флуоресценции. С помощью плазмидной системы экспрессии гена GFP и транзистентных трансфекций клеток MIA PaCa-2 показано повышенное содержание геномных активаторов транскрипции в библиотеке P3. В дальнейшем будет проведено массивное секвенирование библиотеки P3, а также детальный анализ активности и клеточной специфичности отдельных энхансеров и промоторов. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-04-01752_а.

4. КЛАСТЕР ГЕНОВ БЕЛКА ТРАНСПОРТА КРЕМНИЕВОЙ КИСЛОТЫ У ПРЕСНОВОДНОЙ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ *SYNEDRA ACUS SUBSP. RADIANS*

Марченков А.М.

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия

E-mail: marchenkov.am@gmail.com

Диаомовые водоросли являются доминирующей группой фитопланктона в мировом океане, отличительной особенностью которых является видоспецифичный панцирь, построенный из аморфного кремнезема. Концентрация кремния в окружающей среде значительно ниже, чем в клетках диатомей, поэтому им приходится транспортировать кремний против градиента концентрации. Впервые белки транспорта кремния SIT идентифицированы у морской диатомеи *Cylindrotheca fusiformis* (Hildebrand et al., 1997). В базе данных NCBI данные по структуре генов *sit* у пресноводных видов представлены не достаточно.

Была поставлена задача, получить информацию о структуре и локализации в геноме пресноводной пениннатной бесшовной диатомеи *Synedra acus subsp. radians* генов *sit*. С применением метода Сэнгера и высокопроизводительных секвенировании мы определили нуклеотидную последовательность кластера генов *sit* *S. acus subsp. radians*, который состоит из двух мультиплицированных генов *sit-td* (2574 п.н) и *sit-tri* (4245 п.н) последовательно расположенных в одном участке хромосомы на расстоянии в 4183 п.н. друг от друга. Отличительной особенностью предсказанных аминокислотных последовательностей SIT-подобных белков *S. acus subsp. radians* является то, что SIT-TD состоит из двух структурных элементов SIT, а SIT-TRI из трех. В то время как у всех расшифрованных диатомей полноразмерные белки SIT состоят из одного структурного элемента. Таким образом, нами были открыты *sit*-подобные гены в геноме *S. acus subsp. radians*, кодирующие белки SIT состоящие из несколько структурных элементов.

5. ОЦЕНКА ВИДОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ ДИПЛОСТОМ (*TREMATODA: DIPLOSTOMIDAE*) БЕЛАРУСИ С ПОМОЩЬЮ *COX1*

Можаровская Л.В.^{1,2}, Хрисанфова Г.Г.², Вергун А.А.^{1,2}, Семенова С.К.²

¹Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия; ²Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

E-mail: milamozh@yandex.ru

Участок митохондриального гена *cox1* является универсальным генетическим маркером, используемый для ДНК-баркодинга видов. Трематоды рода *Diplostomum* характеризуются сложным триксенным жизненным циклом с высоким уровнем фенотипической пластичности, что делает эффективным использование ДНК-баркодинга для видовой идентификации. Относительно недавно данный метод использовался для определения 35 видов и линий в Сев. Америке, Азии и Зап. Европе. Цель настоящей работы состоит в определении последовательностей *cox1* диплостом, собранных в четырех водоёмах Республики Беларусь (оз.Нарочь и Б.Швакшты, водохранилище Дрозды (Минск), р.Припять). ДНК выделяли из церкарий, паразитирующих в моллюсках родов *Lymnaea* и *Radix* (n=13); 22 метацеркарий, инфицирующих 8 видов карповых рыб (сем. *Cyprinidae*) и трехиглую колюшку (сем. *Gasterosteidae*); 13 марит, обнаруженных в кишечнике утиных птиц (*A.platyrrhynchos*) и чаек (*L.canus*, *L.ridibundus*). Для сравнения использовали известные гаплотипы диплостом Голарктики. На основании филогенетических реконструкций показано, что исследуемые изоляты принадлежат видам: *D.pseudospathaceum*, *D.spathaceum* (церкарии, метацеркарии и мариты), видовым комплексам '*D. mergi*' (метацеркарии и церкария известной линии *mergi2*) и '*D. baeri*' (церкарии и мариты LIN4), а также двум линиям: LIN2 и LIN6 (метацеркарии). Для всех идентифицированных видов/линий получены новые данные о промежуточных, дополнительных и дефинитивных хозяевах. Обсуждаются особенности трансмиссии диплостом, а также возникновение гостальной специфичности. Работа финансирована грантом РФФИ №14-14-00832.

6. НЕКАНОНИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ СИГМА-СУБЪЕДИНИЦЫ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ В ИНИЦИИИ ТРАНСКРИПЦИИ

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

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: danila@pupov.ru

Сигма-субъединица бактериальной РНК-полимеразы (РНКП) играет ключевую роль на всех стадиях инициации транскрипции. Как было показано нами ранее, район 3.2 сигма-субъединицы, который располагается вблизи от активного центра РНКП, позиционирует матричную цепь ДНК в активном центре, способствует связыванию инициаторных NTP (iNTP) и облегчает диссоциацию сигма-субъединицы при уходе РНКП с промотора. В данной работе основное внимание уделено изучению роли района 3.2 в инициации транскрипции на промоторе *rrnBP1* генов рибосомальных РНК. Особенностью этого промотора является то, что он формирует с РНКП крайне нестабильные комплексы и эффективность транскрипции на нем сильно зависит от концентрации первого инициаторного нуклеотида (АТР). Также данный промотор подвергается регуляции по механизму строгого контроля с участием транскрипционного фактора DksA и алармона ppGpp. Оказалось, что мутации в районе 3.2 сигма-субъединицы РНКП увеличивают стабильность комплексов РНКП с *rrnBP1*-промотором, но оказывают незначительное влияние на значения кажущихся констант Михаэлиса (K_m) для iNTP (в отличие от других промоторов, образующих стабильные комплексы с РНКП). Кроме того, мутации в районе 3.2 сигма-субъединицы влияют на эффективность подавления транскрипции на промоторе *rrnBP1* фактором DksA и ppGpp как *in vitro*, так и *in vivo*. Таким образом, район 3.2 сигма-субъединицы играет ключевую роль в образовании нестабильных комплексов РНКП с промотором *rrnBP1* и в регуляции синтеза рРНК на различных стадиях роста клеток. Работа поддержана грантом Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых-кандидатов наук (МК-9567.2016.4).

7. ОГРАНИЧЕНИЯ НОВЕЙШИХ ТЕХНОЛОГИЙ АНАЛИЗА ДНК НА ПРИМЕРЕ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПРИЧИНЫ АД ЗАБОЛЕВАНИЯ В БОЛЬШОЙ СЕМЬЕ

Рыжкова О.П., Дадали Е.Л., Коновалов Ф.А., Поляков А.В.

Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

E-mail: ryzhkova@dnalab.ru

В 2011г. проведено обследование семьи с МД включающей 80 человек из 6 поколений. Диагноз подтвержден у 12 членов семьи, со слов родственников у 6 умерших так же были проявления МД. Установлен АД тип наследования. До сих пор примерно для половины АД форм МД не установлен ген, обуславливающий развитие заболевания.

Методом секвенирования по Сенгеру было проведено исследование генов *LMNA A/C*, *CAV3*, *TTID*. Мутаций обнаружено не было.

В 2014 году ДНК 4 больных исследована в 2-х различных организациях методом полногеномного секвенирования (WGS). В результате работы у каждого из пробандов были найдены предположительно значимые мутации в генах *COL6A3*, *NEB*, *TTN*, *ITGA7*, *RYR1*. Однако при сравнении всех полученных заключений ни одной общей замены выявлено не было.

Позднее были заново проанализированы исходные данные WGS всех больных. Выявлены несколько локусов общих для четырех обследованных пробандов. При более детальном исследовании этих локусов у всех членов семьи сцепления с заболеванием обнаружено не было.

Для исключения протяжённых делеций/дупликаций было проведено исследование ДНК 2 пробандов методом хромосомного микроматричного анализа. Изменений, объясняющих клиническую картину, обнаружено не было.

Таким образом, использование нескольких новейших технологий для анализа, а также ДНК нескольких членов семьи не всегда позволяет установить молекулярный дефект. В данном случае причиной заболевания могут являться структурные перестройки генов/хромосом или изменения числа повторов в гене или изменения числа копий генов, выявление которых является ограничением использованных методов.

8. ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ХРОМАТИНА И ЕГО 3D УПАКОВКИ

Сидоренко И.А.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

E-mail: vanyasidorenko22@gmail.com

Знания о 3D конформации хроматина необходимо для понимания фундаментальных свойств организации генома. От пространственной структуры ДНК напрямую зависят такие важные биологические процессы как регуляция экспрессии генов, репликация ДНК и тд. Пространственная укладка хромосомы в ядре во многом зависит от эпигенетических модификаций гистонов и ДНК. Наряду с экспериментальными методами изучения пространственной организации генома также применяется и моделирование.

Цель работы - изучение влияния эпигенетического профиля хроматина на его 3D упаковку. Для этого строится компьютерная модель пространственной конформации хроматина на базе пакета HOOMD-blue. Хромосома представлена как гетерополимер, мономеры которого находятся в различных эпигенетических состояниях. Суперскрученность ДНК моделируется потенциалом торсионных углов с помощью «фантомных» частиц, также вводится потенциал Леннарда-Джонса и потенциал, зависящий от длин связей между соседними мономерами.

Модель дает возможность имитировать образование петель активного хроматина за счет изменения заряда мономера. Плотные участки метилированного хроматина получают при уменьшении заряда. Также изучается поведение формы хромосомы в зависимости от эпигенетического состояния хроматина.

Разрабатываемая модель может обеспечить основу для понимания того, как регуляция эпигенома в ходе развития может привести к вариациям клеточных фенотипов через масштабную реорганизацию генома.

9. МЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНА TBX4 КАК ФАКТОР РИСКА ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Смаль М.П.¹, Ролевич А.И.², Набебина Т.И.², Красный С.А.², Гончарова Р.И.¹

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь; ²Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н.Александрова, Лесной, Республика Беларусь

E-mail: marharyta.smal@gmail.com

Рак мочевого пузыря без мышечной инвазии (РМП БМИ) характеризуется частым возникновением рецидивов и прогрессии заболевания. Вероятность прогрессирования РМП БМИ в мышечно-инвазивную форму оценивают по клинко-морфологическим критериям, которые не обладают высокой воспроизводимостью и объективностью. Использование молекулярных маркеров могло бы повысить точность прогноза и помочь в выборе тактики лечения. Целью исследования явилось определение прогностического значения эпигенетической изменчивости генов TBX4, SOX1, HOXA9 и ISL1 в отношении прогрессирования РМП БМИ. Количественный анализ метилирования проводился с использованием метода Ms-SNuPE на образцах ДНК, выделенной из свежего опухолевого материала 254 пациентов с РМП БМИ. С использованием непараметрического теста Манна-Уитни установлена статистически значимая ($p < 0,05$) связь более высоких уровней метилирования с такими неблагоприятными показателями, как инвазия подслизистого слоя (гены TBX4, SOX1, ISL1), низкая степень дифференцировки (гены TBX4, SOX1), большие размеры опухоли (гены SOX1, ISL1). Однако только высокая степень метилирования гена TBX4 ($\geq 44,5\%$) достоверно предсказывала прогрессирование заболевания (чувствительность – 92,3%; специфичность – 58,3%; площадь под кривой – 75,6%; $p = 0,002$). Многофакторный регрессионный анализ Кокса с учетом стандартных клинических показателей риска подтвердил независимое прогностическое значение эпигенетической изменчивости гена TBX4 в отношении прогрессирования РМП БМИ (HR 11,3; 95%CI 1,4–90,6; $p = 0,02$). Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (проект M15-046).

10. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПОДТИПЫ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА И МЕТАСТАЗОВ В ПЕЧЕНИ

Шубин В.П., Пономаренко А.А., Майновская О.А., Кашина И.Ю., Цуканов А.С., Шелыгин Ю.А., Поспехова Н.И.

Государственный научный центр колопроктологии им. А.Н. Рыжих Минздрава РФ, Москва, Россия

E-mail: shwit@mail.ru

Колоректальный рак (КРР) является распространённым онкологическим заболеванием во всем мире. Высокая смертность больных КРР обусловлена поражением органов метастазами. Одна из концепций развития метастазов (МТС) предполагает образование опухоли из клеток разных типов с различным метастатическим потенциалом. Исследования Hanahan и соавт. выделили несколько молекулярных подтипов опухоли по генным экспрессионным данным. Так увеличение экспрессии генов ZEB1, ZEB2, VIM, ассоциировано со «стволовободобным» (stem-like), CFTR, FLNA – с «транзит-усиливающим» (TA), MUC2, TFF3 – с «бокаловидноподобным» (goblet-like) и RARRES3 – с «воспалительным» (Inf) подтипами. Цель работы: измерить и проанализировать экспрессию генов ZEB1, ZEB2, VIM, CDH1, CFTR, FLNA, MUC2, TFF3, RARRES3 в опухолях толстой кишки и синхронных МТС в печени. Материал исследования: 44 парных образца опухолей толстой кишки и синхронных МТС в печени (T3-T4b, N0-N+, M1). Методы: ПЦР, ПЦР в реальном времени. В результате исследования обнаружено, что опухоли и МТС в 60% и 70% случаев, соответственно, имеют «ТА» подтип, в 21% и 25% - «stem-like» подтип. «Goblet-like» и «Inf» подтипы обнаружены только в опухолях по 5% и не обнаружены в МТС. В 9% случаев опухоли и метастазы не относились ни к одному подтипу. Совпадение подтипа опухоли и её МТС составило 63%. Полученные данные показывают, что опухоли с высоким метастатическим потенциалом развиваются преимущественно из «stem-like» и «ТА» подтипов. Эти данные могут быть использованы для определения прогностически неблагоприятных форм КРР на ранних стадиях заболевания.

11. РОЛЬ РЕГУЛЯТОРОВ p53 В КОНТРОЛЕ РАКОВО-АССОЦИИРОВАННОГО МЕТАБОЛИЗМА

Шувалов О.Ю., Шакирова А.И., Петухов А.В., Фёдорова О.А., Дакс А.А., Васильева Е.А., Барлев Н.А.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: oleg8988@mail.ru

Раковые клетки различного генезиса характеризуются специфическими изменениями в метаболизме, которые в настоящее время рассматриваются как общее свойство опухолевых клеток. Соответствующие ключевые ферменты раково-ассоциированного метаболизма и их регуляторы являются перспективными мишенями онкофармакологии.

Белок p53 является важнейшим онкосупрессором. В свою очередь, убиквитин-лигаза MDM2 и метилтрансфераза Set7/9 являются, соответственно, основным негативным и позитивным регуляторами активности p53. Помимо этого, они участвуют в различных клеточных процессах.

В данной работе мы обнаружили существование в клетках петли отрицательной обратной связи MDM2 и Set7/9. С целью выявления их функций в раковых клетках, не известных ранее, мы использовали протеомный подход для идентификации интерактантов данных белков, а так же анализ глобальных профилей экспрессии генов с использованием чипов-микроарреев.

Анализ полученных данных показал, что интерактантами MDM2 являются ключевые ферменты гликолиза, цикла Кребса, окислительного фосфорилирования, фолатного цикла и биосинтеза нуклеотидов, а так же ферменты биосинтеза и деградации жирных кислот. Мы показали влияние MDM2 и Set7/9 на экспрессию ряда ферментов путей раково-ассоциированного метаболизма, а так же на интенсивность гликолиза и на устойчивость к ингибитору одноуглеродного метаболизма – метатрексату. Полученные нами данные свидетельствуют о вовлеченности MDM2 и Set7/9 в контроль раково-ассоциированного метаболизма.

Работа поддержана грантами РФФИ 14-50-00068, РФФИ 16-34-00869 мол_а и 16-34-60228 мол_а_дк.

12. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ И ТАКСОНОМИЯ СВОБОДНОЖИВУЩИХ НЕМАТОД СЕМЕЙСТВА ONCHOLAIMIDAE

Ягодина В.Д., Атопкин Д.М., Мордухович В.В.

Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

E-mail: vikalend95@mail.ru

Методом секвенирования ДНК по Сэнгеру (1976) получены нуклеотидные последовательности фрагментов двух генов – 18S рРНК и 28S рРНК для нематод пяти родов семейства Oncholaimidae: *Adoncholaimus*, *Admirandus*, *Oncholaimus*, *Pontonema*, *Curvolaimus*. На основе полученных и уже известных данных реконструированы филогенетические связи внутри семейства Oncholaimidae. По данным для 18S рРНК и 28S рРНК *Admirandus* и *Adoncholaimus* обособляются в отдельный кластер, однако оценка их филогенетических связей с другими онхолаймидами требует привлечения дополнительных молекулярных маркеров. Выполнен анализ молекулярной дифференциации для нематод рода *Oncholaimus* из разных географических локаций, показано наличие в пределах таксона 2 больших групп видов, дифференцирующихся на межродовом уровне.

Тезисы стендовых докладов

1. NON-INVASIVE PRENATAL TESTING FOR ANEUPLOIDY: IMPLEMENTATION IN ESTONIA

O.Žilina¹, M.Sauk¹, L.Kapliniski¹, E.L.Ustav², M.Peters³, A.Kurg¹, A.Salumets^{2,3}

¹Institute of Molecular and Cell Biology, University of Tartu, Tartu, Estonia; ²Women's Clinic, Tartu University Hospital, Tartu, Estonia; ³Competence Centre on Health Technologies, Tartu, Estonia

E-mail: olga.zhilina@ut.ee

In Estonia, current prenatal testing for fetal aneuploidies relies on analysis of maternal serum biomarkers combined with ultrasound examination after which women who are deemed to be at high risk are offered an invasive confirmatory test. Recently, non-invasive prenatal testing (NIPT) was proposed that includes massive parallel sequencing of maternal plasma cell-free DNA (cfDNA) for detection of aneuploidies.

Our aim is to introduce NIPT in clinical practice in Estonia relying on the experience of University Hospital Leuven in Belgium. We collected blood samples from pregnant women with high-risk of fetal aneuploidy who undergo invasive aneuploidy test (Group I; n=134) and blood samples from pregnant women with no indications for invasive procedure (Group II; n=172). Massive parallel sequencing of cfDNA was performed on the NextSeq 500 (Illumina, Inc). Data analysis were performed using in-house developed analysis algorithm. To date, 294 samples were analysed. Five trisomies 21 and two trisomies 18 were detected among Group I pregnancies which was in concordance with the invasive test results. No aneuploidies were found among Group II pregnancies.

In general, NIPT provides greater sensitivity and specificity compared to traditional aneuploidy screening programs while reducing the number of invasive procedures. This makes NIPT an attractive alternative to the current possibilities in prenatal diagnostics. However, further studies are needed, including establishing the potential target groups, before NIPT can be introduced in clinical practice in Estonia.

2. НАПРАВЛЕННАЯ ДОСТАВКА КОНТРАСТНЫХ АГЕНТОВ ДЛЯ МРТ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ОЧАГОВ ЦНС

Абакумова Т.О., Гриненко Н.Ф., Мельников П.А., Нуколова Н.В., Чехонин В.П.

Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им.В.П. Сербского, Москва, Россия

E-mail: abakumova@serbsky.ru

Магнитно-резонансная томография (МРТ) является лидирующим инструментом в визуализации патологических очагов при заболеваниях ЦНС. Несмотря на высокую разрешающую способность метода МРТ, основной проблемой диагностики является низкий контраст между здоровой и патологической тканью. В связи с этим большой интерес вызывает создание новых классов контрастных препаратов для МРТ головного мозга. Создание систем для визуализации патологических очагов, способных селективно связываться с нейроспецифическими антигенами позволит улучшить контрастность изображения и повысить эффективность диагностики заболеваний ЦНС. Целью данной работы была разработка высокоселективных контрастных агентов для направленной МРТ диагностики патологических очагов головного мозга на примере моделей опухолевых и демиелинизирующих заболеваний ЦНС. Для этого молекулы полилизина были модифицированы с помощью хелатирующих агентов (ДТРА или DOTA) и конъюгированы с моноклональными антителами к GFAP или Cx43. Было показано, что после конъюгации антитела сохраняют иммунохимическую активность вплоть до 85% от первоначальной активности. Максимальная нетоксичная концентрация контрастных агентов составила 0.5 мг/мл. Стоит отметить, что релаксивность контрастных агентов превышала значения коммерческого аналога Магневист ($3.4 \text{ ммоль}^{-1} \text{сек}^{-1}$) и составила 6.5 и $8 \text{ ммоль}^{-1} \text{сек}^{-1}$ для ДТРА или DOTA хелатирующего агента, соответственно. Иммунофлуоресцентный анализ взаимодействия конъюгатов контрастного агента и анти-Cx43 и анти-GFAP моноклональных антител выявил высокую специфичность и эффективность их связывания с соответствующими антигенами-мишенями в условиях *in vitro* и *in vivo*.

Данная работа была выполнена при РФФИ №16-34-00373, программы УМНИК Фонда содействия малых форм предприятий, гранта РНФ №14-15-00698 (МРТ анализ).

3. ДЛИНА ТЕЛОМЕР У ПАЦИЕНТОВ СО СНИЖЕННЫМИ КОГНИТИВНЫМИ ФУНКЦИЯМИ

Авилов И.Д., Голиченко Д.О., Красненков Д.С., Дюков Е.В.

Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарёва НАМН Украины, Киев, Украина

E-mail: avilovivan.mg@gmail.com

Одной из самых распространенных болезней пожилых людей во всем мире болезнь Альцгеймера (AD). Ежегодно от нее страдает, по меньшей мере 5000000 человек, которые до этого были вполне здоровыми. В Украине от деменции страдают 63000 пациентов. Ежегодно заболевают более 4,5 тысячи человек. В 40% случаев их постигнет сосудистая деменция. Риск AD резко возрастает у лиц в возрасте старше 70 лет. Сейчас надежных биомаркеров, которые будут идентифицировать людей с повышенным риском к развитию AD не существует, однако разработаны определенные модели исследования AD на ранних этапах. Целью нашей работы было определить корреляцию длины теломер в украинском больных AD, на разных стадиях болезни и изучить выков изменения длины теломер в белых кровяных клетках - WBCs (white blood cells) из AD. Разница в длине теломер была почти отсутствует у групп больных AD, как старых так и молодых ($P = 0,512$). Целная кровь содержит различные популяции WBCs некоторые из них могут демонстрировать укорочение теломер в связи со старением, а также в результате действий определенных генетических или экологических факторов. Было показано, что теломеры в таких клетках как Т и В-лимфоциты, а также моноцитах - короче, у больных бронхиальной астмой по сравнению с контрольной группой. Их результаты согласуются с другими исследованиями. Гораздо больше отличалась длина теломер между группами контроля старых и молодых представителей ($P = 0,01$). Опираясь на полученные результаты, мы можем утверждать, что в украинском больных AD, наблюдается корреляция длины теломер от формы когнитивных нарушений.

4. РОЛЬ БЕЛКОВ NUSA И GFH В РЕГУЛЯЦИИ ПАУЗ И ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ У *DEINOCOCCUS RADIODURANS*

Агапов А.А.^{1,2}, Олина А.В.^{1,2}, Есюнина Д.М.¹, Кульбачинский А.В.^{1,2}

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; ²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: al.a.agapov@gmail.com

Паузы и терминация транскрипции играют важную роль в регуляции экспрессии генов у бактерий. *Deinococcus radiodurans* – бактерия, устойчивая к радиации и другим стрессовым воздействиям. В геноме *D. radiodurans* закодированы белки, которые могли бы играть роль в стрессоустойчивости. Это белки Gre-семейства: универсальный фактор GreA, стимулирующий эндонуклеазную активность РНК-полимеразы, и два его гомолога Gfh1 и Gfh2 с неизвестными транскрипционными свойствами, а также универсальный транскрипционный фактор NusA, который у других бактерий способствует терминации и усиливает некоторые паузы транскрипции. Функции белка NusA у *D. radiodurans* ранее не были изучены. Мы исследовали влияние факторов NusA и Gfh *D. radiodurans* на терминацию и различные типы пауз в реакциях транскрипции *in vitro* в присутствии ионов Mg^{2+} и Mn^{2+} .

Мы установили, что все три исследованных фактора (NusA, Gfh1 и Gfh2) значительно усиливают как формирование пауз, так и терминацию транскрипции, причем активность Gfh-факторов проявляется только в буфере с Mn^{2+} . Активность NusA также зависит от ионного состава среды: влияние NusA на паузирование в присутствии Mn^{2+} снижается. Однако максимальной продолжительности паузы достигают при совместном воздействии NusA и Gfh1 на элонгационные комплексы именно в буфере с Mn^{2+} . Этот результат особенно интересен, поскольку при стрессе концентрация Mn^{2+} в клетках *D. radiodurans* повышается. Таким образом, NusA усиливает эффекты Gfh-факторов на транскрипцию в стрессовых условиях, что может иметь регуляторное значение.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 14-14-01074.

5. РОЛЬ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ EGFR В ПРОЦЕССЕ СПЕРМАТОГЕНЕЗА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Адашев В.Е., Оленина Л.В., Котов А.А.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: adashev.vladimir@gmail.com

Мы изучали влияние сигнального пути EGFR на сперматогенез у *D.melanogaster*. Его нарушение у высших эукариот, включая млекопитающих, ведёт к онкологическим процессам. На фоне мутации *Egfr* в семенниках мы обнаружили формирование кластеров мелких герминальных клеток. В контроле наблюдали градиент из герминальных клеток на разных стадиях развития. На фоне мутации *Egfr* повышается уровень экспрессии дифференцировочных маркёров *Vam* и *Piwi*. Мы детектировали сигнал *Vam* в клетках кластера, однако ограничения числа синхронных митозов этих клеток не происходило. В кластерах также присутствовало множество *Piwi*-положительных клеток, которые делились синхронно и проявляли стволовоподобные свойства. Мы не выявили активацию последнего компонента пути EGFR – ERK – в ранних соматических клетках, в отличие от контроля. С использованием антител к бета-катенину мы выявили нарушения адгезии с соматическими клетками в кластере, существующей между герминальными и соматическими клетками в норме. Анализ сигналов маркёра фузона *Spectrin* показал, что степень разветвлённости фузона в кластере выше нормы. Таким образом, сигнальный путь EGFR необходим для образования адгезионных контактов и для переключения ранних герминальных клеток на программу роста сперматоцитов. Нарушение сигнального пути EGFR приводит к снижению фертильности самцов из-за опухолевой неконтролируемой пролиферации ранних герминальных клеток.

6. КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ЗАМЕНЫ с.2956G>A В ГЕНЕ *FBN1* У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ МАРФАНА

Адян Т.А.¹, Миронович О.Л.¹, Семячкина А.Н.², Румянцева В.А.³, Рогожина Ю.А.³, Поляков А.В.¹

¹Медико-генетический научный центр, Москва, Россия; ²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава РФ, Москва, Россия; ³Российский научный центр хирургии им. Б.В. Петровского, Москва, Россия

E-mail: tagui.adyan@yandex.ru

Синдром Марфана (СМ) – аутосомно-доминантное системное заболевание соединительной ткани с преимущественным поражением сердечно-сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата и органа зрения. СМ обусловлен мутациями в гене фибриллина-1 (*FBN1*), в котором известны около 2000 различных мутаций. Замена с.2956G>A (p.Ala986Thr) в экзоне 25 гена *FBN1* описана в базе SNP NCBI под номером rs112287730 с популяционной аллельной частотой 0,02%. По литературным данным имеются противоречивые сведения о клинической значимости указанного варианта нуклеотидной последовательности. Среди российских больных с клиническим диагнозом СМ, обследованных на наличие мутаций в гене *FBN1*, замена с.2956G>A выявлена у четырех пробандов, трое из которых имели семейную историю заболевания. Проведен сегрегационный анализ в двух доступных для обследования семьях: в первом случае наблюдалась сегрегация замены с заболеванием в семье; однако во втором случае сегрегация отсутствовала – замена с.2956G>A обнаружена у клинически здорового отца пробанда и не выявлена ни у одного из обследованных больных членов семьи. Проведено исследование популяционной выборки из 110 неродственных необследованных жителей РФ: популяционная частота замены с.2956G>A составила 0,9% (обнаружено два гетерозиготных носителя), что статистически не отличается от аллельной частоты данной замены среди больных с СМ (1,5%).

Таким образом, замена с.2956G>A в гене *FBN1* является полиморфизмом, не имеющим клинического значения (т.е. нормальным вариантом нуклеотидной последовательности), и не является причиной СМ.

7. ЭКСПРЕССИЯ ГАМК-А И NMDA РЕЦЕПТОРОВ В ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИХСЯ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНАХ ЧЕЛОВЕКА

Антонов С.А., Новосадова Е.В., Грешенштейн М.А., Лебедева О.С., Кобылянский А.Г., Гривенников И.А.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: vamore@inbox.ru

Рецепторы глутамата и ГАМК обеспечивают соответственно основную часть возбуждающих и тормозящих сигналов в ЦНС человека. Сбалансированная работа этих систем нейротрансмиссии необходима для нормального функционирования и выживания нейронов. В данной работе изучалась экспрессия глутаматных рецепторов NMDA-типа и ГАМК-А рецепторов в ходе терминальной дифференцировки дофаминергических нейронов, получаемых из индуцированных плюрипотентных стволовых (ИПС) клеток человека *in vitro*. В изучаемых культурах наблюдался гетерогенный характер ответов при аппликации агонистов ГАМК и глутаматных рецепторов. Агонисты ГАМК вызывали транзientное повышение внутриклеточной концентрации ионов кальция $[Ca^{2+}]_i$ в доле клеток, которая увеличивалась пропорционально возрасту культуры с 5 по 24 дни дифференцировки (ДД). С 24-30 ДД наблюдались клетки в которых агонисты ГАМК приводили к снижению $[Ca^{2+}]_i$. Аппликация глутамата или NMDA вызывала увеличение $[Ca^{2+}]_i$ после 15 ДД, но только в отдельных клетках. ОТ-ПЦР анализ показал, что мРНК, кодирующие бета-1 субъединицу ГАМК-А, и Glun2A субъединицу NMDA рецепторов, экспрессируются в клетках в ходе всего периода исследования. В тоже время экспрессия мРНК альфа-1 ГАМК и Glun2B NMDA субъединиц детектировалась только в культурах после 24-30 ДД. Таким образом показано, что дофаминергические нейроны человека, получаемые из ИПС клеток *in vitro* способны сохранять ряд незрелых фенотипических характеристик в течении продолжительного периода времени. Механизмы определения зрелого дифференцированного фенотипа нейронов человека требуют дополнительного изучения.

8. О ПРОИСХОЖДЕНИИ КАЗАХСКОГО ПЛЕМЕНИ УАК

Аширбеков Е.Е., Неупокоева А.С., Ходаева А.Ю., Абайлдаев А.О., Айтхожина Н.А.

Институт молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина, Алматы, Казахстан

E-mail: eldarasher@mail.ru

В источниках упоминание о казахском племени Уак впервые встречается со времен Абылай-хана (XVIII в.). По поводу происхождения этого племени существует несколько версий, приведем две из них: По мнению М. Тынышбаева слово "уак" означает "мелочь" или "смесь", т. е. племя незначительное и разнородное по составу. Далее он объясняет происхождение отдельных подразделений уаков: 1) багыс – потомки плененных в XVIII в. киргизских багышей, 2) сргелы из племени Сргелы Старшего жуза, 3) ергенекты – потомки ергенекты-найманов. А. Маргулан считал, что уаки происходят от древних кереев. В пользу этого говорят многочисленные совместные упоминания двух племен. Его мнение разделяют В. Востров и М. Муканов.

Для проверки гипотез нами был исследован полиморфизм Y-хромосомы 25 представителей племени Уак в сравнении с другими родами казахов. В результате выявлено восемь линий: J1, N1c, G1, N1b, O3, D, G2a, R1a1a, три последних в единственном числе. Таким образом, не вызывает сомнений сборное происхождение племени Уак. Линии уаков не обнаружены среди племени Керей, что отвергает версию о родстве с казахскими кереем. Линия J1 также встречалась единожды среди других родов, в том числе найман-ергенекты. Однако, последние в основном несут другие гаплогруппы и гипотеза о происхождении части уаков от них не подтверждается. Гаплотипы линии N1c попадают в один кластер с большинством гаплотипов племени Сргелы, что доказывает связь двух племен. Линии G1 и N1b обнаружены также в племени Аргын, но малое количество образцов и близкое соседство с большим племенем не позволяет исключить случайные процессы. Для окончательного решения всех вопросов необходимо провести сравнение с неказахскими кереем и киргизскими багышами.

9. ИЗМЕРЕНИЕ КОНЦЕВЫХ УЧАСТКОВ ХРОМОСОМ ЭУКАРИОТ КАК ПРЕДИКТИВНЫЙ МАРКЕР БИОЛОГИЧЕСКОГО СТАРЕНИЯ

Бахчеван Е.Л.

Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, Одесса, Украина

E-mail: r4t@list.ru

Теломеры – концевые участки хромосом эукариот. Несмотря на то, что эти концевые участки хромосом не содержат кодирующих последовательностей и представлены повторами (TTAGGG в случае позвоночных, у человека этот повтор может повторяться в среднем 2500 раз (Sadava D., 2011)), они являются чрезвычайно значимыми для функционирования клетки и организма в целом. Учитывая то, что размер теломер уменьшается с возрастом и ассоциирован со связанными с возрастом заболеваниями (Anchelin M., 2011) (Moslehi J., 2012), размер теломер соматических клеток человека являются достоверным маркером биологического старения (Vera E., 2012) и даже может указывать на срок наступления менопаузы у женщин (Gray K.E., 2014).

Таким образом, изучение функционирования теломерных участков является необходимым как для выработки эффективных методов определения биологического старения, так и для нахождения возможных методов увеличения продолжительности жизни человека.

В ходе работы были изучены различные системы определения биологического возраста человека: длина теломер, показатели биохимических тестов, показатели функциональных тестов. Было проведено сравнение результатов различных систем, использующихся для определения биологического возраста. Показатель длины теломер коррелировал с функциональными тестами, использующимися для определения биологического возраста.

10. ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГАПЛОТИПОВ ГЕНА *COI* У *DAPHNIA MAGNA* (CLADOCERA) В СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ

Беккер Е.И.¹, Галимов Я.Р.², Карабанов Д.П.^{1,3}

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия; ²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия; ³Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Борок, Россия

E-mail: evbekker@ya.ru

Определение генетической структуры популяции - один из основных инструментов изучения эволюции вида, в том числе процессов, связанных с историей его расселения. В данном исследовании мы проанализировали набор гаплотипов митохондриального гена *COI* *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera) на территории Северной Евразии и попытались выяснить центр происхождения генетического разнообразия вида и возможные пути его расселения. Для исследования было использовано более 50 популяций *D. magna* Европейской и Азиатской части России, Чехии, Венгрии и Украины. Часть из них была культивирована из покоящихся яиц в лаборатории, остальные были представлены в виде спиртовых проб. Для визуализации результатов анализа обработанных нуклеотидных последовательностей были использованы программы Network и TCS. До проведения настоящего исследования большая часть информации о нуклеотидных последовательностях гена *COI* *D. magna* ограничивалась данными для Европы. Нами впервые получена информация о таковых из республики Тывы, Хакасии, а также различных регионов Восточной и Западной Сибири. На основе полученных данных было установлено, что для *D. magna* характерна четкая дифференциация между европейскими и азиатскими популяциями по гену *COI*, при этом разнообразие гаплотипов среди европейских популяций выше, чем среди азиатских. Центр формирования генетического разнообразия предположительно располагался в районе Монголии-Бурятии, а граница между европейскими и азиатскими популяциями проходит по бассейну Енисея.

11. ГЕНЫ ОБМЕНА ДОФАМИНА У ЗДОРОВЫХ ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ ИЗ УКРАИНЫ

Бельская В.В., Коляда А.К.

Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарёва НАМН Украины, Киев, Украина

E-mail: veronika.bielska@gmail.com

Продолжительность жизни в последнее время сильно возрасла. Но далеко не во всех случаях это сопровождается улучшением общего состояния здоровья. Довольно часто возрастные проблемы спровоцированы психоневрологическими причинами. Самыми распространенными проблемами, привлекающими внимание исследователей, являются болезнь Паркинсона и различные формы биполярных расстройств и шизофрении. Одним из подходов к разработке терапий таких состояний является поиск генетических особенностей, которые позволяют избежать такого типа проблем в популяции долгожителей из Украины. Наши исследования сконцентрированы в частности вокруг частот полиморфизмов генов обмена дофамина. В данном исследовании было проанализировано ряд полиморфизмов таких генов методом количественного ПЦР. Были получены достоверные отличия по частотам встречаемости аллелей; генов DR2, DR4, DAT и SNAP на выборке из 140 представителей; популяции долгожителей из Украины (65 мужчин и 75 женщин).

12. ХРОМОСОМ-ЗАМЕЩЕННЫЕ ФОРМЫ - НЕЗАМЕНИМЫЙ ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ОБОГАЩЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ХЛОПЧАТНИКА

Бобохужаев Ш.У.¹, Санамьян М.Ф.¹, Макамов А.Х.², Абдурахмонов И.Ю.²

¹Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека, Ташкент, Республика Узбекистан; ²Институт геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Республика Узбекистан

E-mail: bobohujayev@mail.ru

Использование облучения семян тепловыми нейтронами и гамма-облучения пыльцы позволило создать новую Цитогенетическую коллекцию хлопчатника за период 1987-2010 годов, включившую 95 первичных моносомиков хлопчатника *G. hirsutum* L. в общем генетическом фоне высоко инбредной линии Л-458.

Мы скрещивали моносомные линии Цитогенетической коллекции Национального университета Узбекистана (НУУз) с удвоенной гаплоидной линией Pima 3-79 (USA) вида *G. barbadense* L. Среди гибридной популяции цитогенетическим анализом выделяли моносомные межвидовые хромосом-замещенные гибриды F₁. Цитогенетический анализ гибридных растений F₁ с замещениями отдельных хромосом выявил присутствие моносомных растений в десяти гибридных семьях.

Все обнаруженные гибридные моносомные формы с замещениями отдельных хромосом характеризовались наличием на стадии метафаза I мейоза 25 бивалентов и одного унивалента различного размера, который представлял собой хромосому вида *G. barbadense* L.

Анализ фертильности пыльцы у пяти гибридных моносомных форм (Mo17 x Pima 3-79, Mo42 x Pima 3-79, Mo50 x Pima 3-79, Mo59 x Pima 3-79, Mo84 x Pima 3-79) обнаружил различия между гибридными моносомиками по фертильности, вплоть до полустерильности пыльцы (54,94 ± 3,13%) у гибридного моносомика Mo50xPima 3-79, что объяснялось несбалансированностью гапло-дефицитных гамет у моносомиков.

Таким образом, хромосом-замещенные линии (Chromosome substitution lines / CS) у растений являются мощным генетическим ресурсом для анализа вклада отдельных хромосом в контролирование хозяйственно-ценных признаков.

13. РАЗРЕШЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ ДЕСТАБИЛАЗЫ МЕДИЦИНСКОЙ ПИЯВКИ

Бобровский П.¹, Курдюмов А.¹, Зиновьев Е.², Борщевский В.², Манувера В.^{1,2}

¹Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА, Москва, Россия; ²Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный, Россия

E-mail: pbobrovskiy@gmail.com

Дестабилаза представляет собой белок, содержащийся в секрете слюнных желез медицинских пиявок (*Hirudo medicinalis*, *H. verbana* и *H. orientalis*) и является первым описанным лизоцимом i-типа. Главным отличием данной группы от других лизоцимов является наличие, помимо мурамидазной, еще и эндо-эпсилон-(гамма-Glu)-Lys-изопептидазной ферментативной активности. Наибольший интерес дестабилаза представляет именно в свете своей изопептидазной активности, которая определяет ее тромболитический потенциал. К настоящему моменту, помимо дестабилазы, открыт ряд лизоцимов i-типа, сочетающих мурамидазную и изопептидазную каталитические активности. Строение активного центра, отвечающего у этих белков за изопептидолиз, до сих пор не известно. Имеющиеся данные, основанные на результатах компьютерного моделирования и мутационном анализе, лишь позволяют приблизительно картировать его местоположение. Для решения этой проблемы мы решили получить рекомбинантную активную дестабилазу и разрешить ее структуру с помощью рентгено-структурного анализа. Мы получили стабильную суспензионную линию клеток человека Expi293F, продуцирующих дестабилазу, отработали двустадийную хроматографическую очистку белка (конечный выход белка составил 10 мг с 1 л культуры клеток). Были подобраны условия кристаллизации, определена пространственная структура дестабилазы с разрешением 1.1 Å. В настоящее время ведутся работы по кристаллизации дестабилазы совместно с субстратом гамма-Glu-эпсилон-Lys.

Поддержано РФФИ 16-34-00480 мол_a

14. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ ХАРПИНО-ПОДОБНОГО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА

Бозин Т.Н.^{1,2}, Щукина В.Д.³, Рогожин Е.А.³, Бочаров Э.В.^{1,3}

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; ²НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия; ³Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

E-mail: timur.bozin@gmail.com

Пространственная структура антимикробного пептида — нигеллина-1.1 (nigellin-1.1), выделенного из семян черного тмина (*Nigella sativa* L.), установлена методом спектроскопии ЯМР. По двумерным ¹H/¹H-ЯМР спектрам DQF-COSY, TOCSY и NOESY, а также гетероядерному спектру ¹H/¹³C-HSQC (накопленному на природном содержании изотопа ¹³C) было произведено отнесение ¹H-, ¹³C-резонансов и кросс-пиков ЯЭО, определение межпротонных расстояний и констант спин-спинового взаимодействия. Расчет пространственной структуры выполнялся методом молекулярной динамики в пространстве торсионных углов с использованием алгоритма “моделируемого отжига” (simulated annealing).

Ключевым элементом структуры нигеллина-1.1 являются две взаимодействующие друг с другом α-спирали Arg2-Cys14 (с витком 3₁₀-спирали Thr15-Ile17 на C-конце) и Tyr20-Thr36 (с N-“кэп” водородной связью между боковой и основной цепью остатков Asp19-Gly22). Остаток Pro18 из короткой петли, соединяющей α-спирали, находится транс-конфигурации. Таким образом, пептид нигеллин- 1.1 имеет вид левозакрученной шпильки, стабилизированной тремя дисульфидными связями Cys6-Cys34, Cys10-Cys30 и Cys14-Cys26, с углом между антипараллельными α-спиралями ~160°. Неравномерность распределения полярных и гидрофобных остатков в шпильке и, как результат, амфифильность поверхности указывают на возможную мембранную активность нигеллина-1.1, а конформационная гомология указывает на его принадлежность к семейству α-харпининов, или харпино-подобных пептидов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 15-04-05097-а.

15. ПРОХОЖДЕНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК И ВКЛЮЧЕНИЕ РИБОНУКЛЕОТИДОВ ПРАЙМАЗОЙ-ПОЛИМЕРАЗОЙ PRIMPOL ЧЕЛОВЕКА

Болдинова Е.О., Макарова А.В.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: lizaboldinova@yandex.ru

PrimPol – это новая специализированная ДНК-полимераза человека, впервые описанная в 2013 году. PrimPol обладает одновременно праймазной и ДНК-полимеразной активностями и, предположительно, участвует в репликации поврежденной ДНК, а также в реинициации репликации после повреждений в ходе *de novo* ДНК-синтеза. Благодаря активному центру, не требовательному к структуре ДНК, PrimPol с высокой частотой может включать некомплементарные или неканонические нуклеотиды при репликации.

В настоящей работе мы анализировали эффективность и точность включения dNTP напротив окисленных азотистых оснований (8-охо-G и тимидин гликоль), а также частоту включения riboNTP напротив неповрежденных и поврежденных ДНК-матриц. Было показано, что тимидин гликоль в значительной степени блокирует работу PrimPol, однако PrimPol эффективно проходит 8-охо-G, включая напротив него комплементарный dCTP в 6 раз эффективнее, чем некомплементарный dATP. В присутствии ионов Mn^{2+} в качестве кофактора PrimPol более успешно преодолевает повреждения, чем в присутствии ионов Mg^{2+} .

Продemonстрирована способность PrimPol к включению riboNTP при использовании концентраций нуклеотидных субстратов, близких к физиологическим. С наибольшей эффективностью PrimPol осуществляет включение riboATP напротив матричного T, с наименьшей — UTP напротив A. Ионы Mn^{2+} стимулируют включение riboNTP PrimPol.

Работа выполнена при поддержке программы «МКБ, Новые группы», РФФИ (15-34-70002-мол_a_мос и 15-04-08-398-а) и фонда «Династия».

16. ВКЛЮЧЕНИЕ РИБОНУКЛЕОТИДОВ POL ВЕТА И POL КАРРА ЧЕЛОВЕКА ПРИ РЕПЛИКАЦИИ

Бондаренко К.А., Макарова А.В.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: magnelia1@yandex.ru

Концентрации рибонуклеотидтрифосфатов (rNTP) в клетке в 10 — 200 раз превышают концентрации дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (dNTP). В ходе эволюции ДНК-полимеразы (ДНКП) приобрели способность к дискриминации между rNTP и dNTP при синтезе ДНК, но эффективность дискриминации rNTP даже у высокоточных репликативных ДНКП не является абсолютной. Включение rNTP в состав ДНК может приводить к нарушению геометрии сахарофосфатного остова и разрывам ДНК вследствие гидролиза. Активный центр специализированных ДНКП нетребователен к структуре матрицы и нуклеотидов, что позволяет эффективно включать нуклеотиды напротив поврежденных нуклеотидов. Благодаря такому строению активного центра специализированные ДНКП осуществляют высокоошибочный синтез и, предположительно, могут с высокой частотой включать rNTP в состав ДНК.

Мы провели исследование эффективности включения rNTP Pol карра и Pol beta человека при репликации на неповрежденных ДНК-матрицах. Было показано, что при использовании концентраций rNTP и dNTP, близких к физиологическим, ДНКП включают rNTP напротив всех четырех матричных нуклеотидов. С наибольшей частотой Pol карра и Pol beta включают rATP напротив матричного T и rCTP напротив матричных G и A.

Работа выполнена при поддержке программы «МКБ, Новые группы», РФФИ (15-04-08-398-а) и фонда «Династия».

17. ИССЛЕДОВАНИЯ АПАТОГЕННОГО ВИРУСА ГРИППА H5N3 В КАЧЕСТВЕ ВАКЦИНЫ ОТ ВЫСОКОПАТОГЕННОГО H5N1

Боравлёва Е.Ю.¹, Гордейчук И.В.¹, Луницын А.В.², Гамбарян А.С.¹

¹Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН, Москва, Россия; ²Всероссийский НИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии, Покров, Россия.

E-mail: elisa13@yandex.ru

Несмотря на все усилия контролирующих организаций и научной общественности вирус H5N1 остаётся важнейшей проблемой развивающихся стран Азии и Африки.

Распространение высокопатогенных вирусов представляет собой не только основную «головную боль» птицеводства, но и не до конца прояснённый вопрос вирусологии. Главными жертвами высокопатогенных H5N1 вирусов являются куры; но кто же переносит вирус от фермы к ферме?

Представляется вероятным, что эффективнее всего работает цепочка дикие утки – домашние утки – куры.

Мы исследовали возможность использования апатогенного вируса гриппа дикой утки H5N3 - A/duck/Moscow/4182/2010 (d/4182) в качестве живой вакцины, препятствующей циркуляции высокопатогенных вирусов H5N1 между утками и курами. При заражении уток высокопатогенным вирусом A/chicken/Kurgan/3/2005 (H5N1), они не болеют, но выделяют с фекалиями инфекционный вирус. Мы продемонстрировали, что цыплята, подсаженные к таким уткам, заражаются и гибнут. Если же утки были предварительно вакцинированы вирусом d/4182, то при последующем заражении вирусом H5N1 они не выделяют вирус в окружающую среду и цыплята не инфицируются. Вирус d/4182 вызывает у уток хороший иммунный ответ при добавлении низких доз вируса в поилки, очевидно вследствие того, что утки являются природным хозяином данного вируса. Таким образом, вирус A/duck/Moscow/4182/2010 способен подавлять циркуляцию высокопатогенных H5N1 при однократной оральной иммунизации уток, и может рассматриваться как дешёвый и удобный в использовании кандидат в вакцинный штамм.

18. ИЗУЧЕНИЕ ЧАСТОТЫ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА IL28B У ПАЦИЕНТОВ С ГЕПАТИТОМ С В УКРАИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Борисова О.В., Бахчеван Е.Л.

Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, Одесса, Украина

E-mail: oljachum@gmail.com

В исследование вошли 105 пациентов с диагнозом HCV, которые продолжают лечение гепатита С, пациенты, которые его успешно закончили, а также пациенты, которые прервали лечение в связи с побочными эффектами либо неэффективностью лечения. Генетический материал для тестирования предоставлен восьми государственными лечебными учреждениями разных регионов Украины.

Целью исследования было определение полиморфизма rs8099917 гена IL28B у пациентов с диагностированным гепатитом С, выявление частот полиморфизмов T/G и G/G, ассоциированных с неблагоприятным исходом лечения при помощи терапии рибаверином и интерфероном.

У пациентов, получавших терапию, были получены данные касательно вирусологического ответа на терапию и сопоставлены с вариантом полиморфизма rs8099917 гена IL28B.

Согласно полученным данным, частота неблагоприятного G-аллеля у больных гепатитом С украинской популяции составила 34 %.

19. АКТИНИИ РОДА *AULACTINIA* ДЕМОНИСТРИРУЮТ ВЫСОКУЮ СКОРОСТЬ ЭВОЛЮЦИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

Бочарова Е.С.

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

E-mail: bocharova.ekaterina@gmail.com

Известно, что класс Anthozoa характеризуется низкой скоростью эволюции митохондриальной ДНК. Исследование нескольких видов актиний из двух близких родов *Urticina* и *Cribrinopsis*, а также рода *Aulactinia* привело к двум абсолютно противоположным результатам, один из которых оспаривает данное утверждение. В первом случае, все экземпляры *U. felina* (БМ - Баренцево море), *U. eques* (БМ), *U. grebelnyi* (ТО - Тихий океан), *U. crassicornis* (ТО), *Urticina* spp. (ТО), *C. similis* (БМ), *C. albopunctata* (ТО) имели один и тот же митохондриальный гаплотип (по последовательностям митохондриальных генов 12S рРНК, 16S рРНК и COIII), либо, как у *U. crassicornis* (БМ) и *C. olegi* (ТО), он отличался от данного гаплотипа всего на 1 нуклеотид. Этот факт подтверждает низкую скорость эволюции митохондриальной ДНК в группе *Urticina/Cribrinopsis*. Во втором случае, мы выявили пять митохондриальных гаплотипов среди особей вида *A. stella* из Тихого океана (в Белом и Баренцевом морях присутствовал лишь один гаплотип у данного вида), а также отличающийся от последнего на 51 нуклеотид (на 3%) митохондриальный гаплотип особей рода *A. vladimiri* (ТО). Таким образом, у изученных актиний рода *Aulactinia* дифференциация видов по митохондриальной ДНК более выраженная, а у *A. stella* присутствует внутривидовое разнообразие митохондриальных гаплотипов, что может свидетельствовать о более высокой скорости эволюции у этих видов.

20. СТРУКТУРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ СЕМЕЙСТВА ГЛИОКСАЛАЗА I ИЗ БАКТЕРИЙ МИКРОБИОМА ЧЕЛОВЕКА

Бошкова Е.А., Каргатов А.М., Чиргадзе Ю.Н.

Институт белка РАН, Пушкино, Россия

E-mail: boshkova.e.a@rambler.ru

В 2011 году был завершен проект по расшифровке геномов бактерий человеческого организма «Микробиом человека» (Nature, 2011). В результате был получен массив данных, которые нуждаются в дальнейшей систематизации. С этой целью мы предлагаем метод структурной идентификации белков. В данной работе метод использован для идентификации жизненно важного фермента – глиоксалазы I.

Целью работы было соотнести аминокислотные последовательности, структура и функция которых еще не идентифицированы, с известными пространственными структурами ферментов семейства глиоксалазы I и провести их разделение по подсемействам.

В ходе работы из Банка белковых структур PDB были отобраны 29 пространственных структур ферментов глиоксалазы I с высоким разрешением и величиной идентичности аминокислотных последовательностей ниже 35%. Критериями разделения на подсемейства были:

- средняя величина идентичности последовательностей внутри подсемейств (100 - 45%);
- консервативность аминокислотных остатков-лигандов, связывающих ионы металла в каталитическом центре;
- консервативность связывания двух доменов протомера водородными связями.

В итоге были выделены 6 новых структурных подсемейств фермента глиоксалазы и идентифицированы 340 белковых последовательностей. В их числе представлены белки нескольких наиболее распространенных бактерий микробиоты человека: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Аналогичный подход позволяет провести структурную систематику других неидентифицированных аминокислотных последовательностей, соответствующих расшифрованным генам микробиоты человека.

21. ЧАСТАЯ МУТАЦИЯ ГЕНА DYSF, ВЫЯВЛЕННАЯ СРЕДИ АВАРЦЕВ РЕСПУБЛИКИ ДАГЕСТАН

Булах М.В., Рыжкова О.П., Поляков А.В.

Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

E-mail: bmw_999_05@mail.ru

Дисферлинопатии - группа аутосомно - рецессивных нервно - мышечных заболеваний, вызываемых мутациями в гене DYSF (локус 2p13), - представлены двумя основными фенотипами: поясно-конечностной мышечной дистрофией 2В [ОМIM:253601] и мышечной дистрофией Миоши типа 1 [ОМIM:254130]. В 2000 году С.Н. Иллариошкиным была описана уникальная высокоинбредная семья аварцев из республики Дагестан. В шести поколениях данной семьи наблюдались множественные случаи мышечных дистрофий трёх различных фенотипов. Все пораженные члены семьи имели идентичную мутацию с.200_201delinsAT в гене DYSF, что, в совокупности с характерной для аварской народности высокой частотой кровнородственных браков, позволило предположить носительство этой мутации среди других этнических аварцев. Проведён поиск мутации с.200_201delinsAT в выборке 311 необследованных аварцев Цумадинского и Ботлихского районов Дагестана, в результате чего мутация была выявлена у 14 человек в гетерозиготном состоянии (4,5 %). Исходя из наблюдаемой частоты гетерозиготного носительства с.200_201delinsAT в обследованной выборке, рассчитана частота дисферлинопатий среди аварцев в Дагестане, составившая 1:2000 с 95% доверительным интервалом от 1:6024 до 1:690. Полученный результат свидетельствует о том, что дисферлинопатии являются самыми частыми мышечными дистрофиями среди аварцев. Необычно высокая частота указанной группы мышечных дистрофий сравнима с самой высокой распространенностью дисферлинопатий в мире среди ливийских евреев и японцев.

22. ПОЛИМОРФИЗМ *GYMNADENIA CONOPSEA* (L.) R.BR. (ORCHIDACEAE) В КРАЕВЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ НА ИЗВЕСТНЯКАХ ЕВРОПЕЙСКОГО СЕВЕРО-ВОСТОКА РОССИИ

Валуйских О.Е., Шадрин Д.М., Пылина Я.И.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

E-mail: valuyskikh@ib.komisc.ru

В результате изучения внутривидовой фенотипической изменчивости *Gymnadenia conopsea* (L.) R. Br. на известняках Европейского Северо-Востока России была выявлена особая экологическая форма – *G. conopsea* var. *alpina* Rechb. f. ex Beck с локальным распространением на Среднем Тимане, в районе выходов известняков по р. Белая Кедва. Она представлена несколькими малочисленными популяциями, которые занимают наиболее холодные местообитания – останцы и осыпи в нижней части известняковых склонов северной и северо-восточной экспозиции. От типичной разновидности *G. conopsea* subsp. *conopsea* эти растения отличаются меньшими размерами – высотой побегов, длиной соцветий, числом цветков, шириной листьев. Устойчивое закрепление у особей *G. conopsea* var. *alpina* низких значений этих признаков и сокращенного онтогенеза позволили обозначить основной путь адаптации вида к недостатку тепла и возможный тренд микроэволюционных процессов. Целью работы было выявление генетического разнообразия популяций *G. conopsea* и оценка степени генетической обособленности *G. conopsea* var. *alpina* на Тимане с применением AFLP анализа. Молекулярно-генетические исследования проведены на базе ЦКП «Молекулярная биология» Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Проведенные исследования показали, что фенотипические различия между *G. conopsea* subsp. *conopsea* и *G. conopsea* var. *alpina* закреплены на генетическом уровне.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-34-00608).

23. АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИОННОГО ОТВЕТА В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА С РАЗЛИЧНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ

Васильев С.А.¹, Агаб А.В.¹, Скрыбин А.А.¹, Климова В.С.², Фишман В.С.³, Серов О.Л.³, Лебедев И.Н.¹

¹НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия; ²Томский государственный университет, Томск, Россия; ³Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

E-mail: stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

Воздействие радиации вызывает значительные изменения в клетках человека, выражающиеся в активации различных сигнальных путей и транскрипционного ответа множества генов. Величина этих изменений варьируется для различных индивидов, составляя феномен индивидуальной радиочувствительности. Нами проведен полнотранскриптомный анализ экспрессионных профилей с помощью микрочипов в лимфоцитах радиочувствительных и радиорезистентных индивидов, отобранных среди 54 лиц с различной частотой микроядер после воздействия γ -излучением в дозе 2 Гр. В подгруппе радиорезистентных индивидов были выделены отдельные гены (511 и 525 в необлученных и облученных образцах, соответственно), дифференциальная экспрессия которых может быть ассоциирована с повышенной эффективностью репарации ДНК. Среди них наибольшие различия между группами по уровню экспрессии наблюдались для гена THBS1 (экспрессия снижена в группе радиорезистентных индивидов) и генов WHSC1, ADAMTS1 и RBFOX2 (экспрессия повышена в группе радиорезистентных индивидов). В последующем эксперименте на 18 первичных линиях экстраэмбриональных фибробластов человека в линиях с низкой частотой радиационно-индуцированных микроядер, как и в лимфоцитах, наблюдалась повышенная экспрессия генов ADAMTS1 и WHSC1 ($R=-0,63$, $p=0,016$ и $R=-0,56$, $p=0,037$, соответственно). Выявленные гены могут служить потенциальными маркерами индивидуальной радиочувствительности в соматических клетках человека. Перспективы развития исследований связаны с экспериментами на созданных нокаутных линиях по генам THBS1, WHSC1, ADAMTS1 и RBFOX2 в рамках проекта РФФИ 16-34-50178.

24. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SET7/9 И РНК-СВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА SAM68

Васильева Е.А., Федорова О.А., Дакс А.А., Шувалов О.Ю., Петухов А.В., Лялина Т.А., Барлев Н.А.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: slkd-k@mail.ru

По данным ВОЗ на 2014 год, онкологические заболевания являются одной из основных причин заболеваемости и смертности во всем мире. Причины возникновения рака еще очень плохо изучены. Sam68 (Src-associated substrate during mitosis of 68 kDa) является РНК-связывающим белком вовлеченным в регуляцию клеточного цикла, биогенез РНК и альтернативный сплайсинг. Было показано, что уровень экспрессии и локализация этого белка коррелируют с возникновением, степенью опухоленности и неблагоприятным прогнозом при раках простаты, груди, почек и нейроblastоме. Доменная структура Sam68 включает в себя КН домен, необходимый для связывания с РНК. Было показано, что аргинины в RG домене Sam68 являются сайтами для метилтрансферазы PRMT1. Гипометилированный Sam68 частично перераспределяется из ядра в цитоплазму. Метилтрансфераза Set7/9 катализирует сайт-специфическое метилирование остатков лизина в гистоновых и негистоновых субстратах. Такая модификация белков оказывает различный эффект на их стабильность, функцию и взаимодействие с партнерами. Используя протеомный подход, мы продемонстрировали прямое взаимодействие между белками Sam68 и Set7/9 и идентифицировали домены связывания этих белков. Нами были выделены особые паттерны, формируемые белком Sam68 в клетках остеосаркомы человека U2OS. Кроме того, нами была изучена возможная регуляторная роль метилирования в жизненном цикле этого многофункционального белка. Эта работа была поддержана фондами РФФИ No.16-34-00869 mol_a и No.16-34-60228 mol_a_dk, РФФИ No.14-50-00068, а также U.M.N.I.K. 15-5 №0014995.

25. БИОИНФОРМАЦИОННЫЙ ПОИСК И ЭКСПРЕССИЯ НОВЫХ ФЕРМЕНТОВ, МОДИФИЦИРУЮЩИХ УГЛЕВОДЫ

Волков П.В., Рожкова А.М.

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

E-mail: pvvolkov@mail.ru

Актуальность исследований, направленных на поиск новых, ранее неизученных, ферментов, секретируемых грибами штаммами продиктована необходимостью использования их в различных сферах биотехнологической промышленности и сельском хозяйстве. В настоящее время существует широкий спектр продуцентов, однако не все являются продуктивными и всесторонне изученными. Одним из модельных штаммов является гриб *Penicillium canescens*, который секретирует во внеклеточное пространство ксиланазу, две арабинофуранозидазы и бета-галактозидазу. Все вышеуказанные ферменты принимают участие в комплексной модификации гетерополисахаридов. При детальном анализе спектра белков гриба *P.canescens*, и масс-спектрометрии в КЖ штамма был обнаружен новый белок – экзо-альфа-L-арабиназа, фермент, высвобождающий арабинозу в процессе гидролиза полисахарида - арабинана. Такой фермент востребован не только в медицинской и текстильной промышленности, но и при кормопроизводстве для разрушения производных арабинана. Методами геномной инженерии был выделен и секвенирован *abnA* ген, кодирующий экзо-арабиназу гриба *P.canescens*. Для изучения целевого белка, ген арабиназы был экспрессирован под промотором гена *hlyA* *P.canescens*. В результате был получен штамм моно-продуцент экзо-арабиназы *P.canescens* с выходом экзо-арабиназы более 60% от общего белка. Исследования биохимических свойств позволили установить *M_r* экзо-арабиназы равную 41 кДа и высокую удельную активность фермента по арабинану, что увеличивает интерес к его дальнейшему детальному изучению. Уникальный номер гранта ПНИЭР RFMEFI60716X0159.

26. ИЗУЧЕНИЕ СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *BETA-2* АДРЕНОРЕЦЕПТОРА С ТЯЖЕСТЬЮ ТЕЧЕНИЯ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ БЕЛАРУСИ

Воловик Н.О.¹, Чакова Н.Н.¹, Ниязова С.С.¹, Щаюк А.Н.¹, Беляева Л.М.², Мытько Ю.А.¹, Микульчик Н.В.²

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь; ²Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

E-mail: N.Chakova@igc.by

Бронхиальная астма (БА) – генетически обусловленное мультифакторное заболевание. Ген бета-2-адренорецептора (*ADRB2*) является одним из генов с установленным влиянием на течение бронхиальной астмы (БА), которое ассоциируют с наличием функционально-значимых однонуклеотидных замен. Цель работы: Оценить связь полиморфизма гена *ADRB2* со степенью тяжести течения бронхиальной астмы у детей Беларуси. Материалы и методы. Методом ПЦР-ПДРФ исследовали полиморфные локусы *rs1042713* (*Arg16Gly*) и *rs1042714* (*Gln27Glu*) гена *ADRB2* у 274 детей с БА. В зависимости от тяжести течения БА, пациентов разделили на подгруппы: интермиттирующая (*n*=29), легкая персистирующая (*n*=135), средней тяжести персистирующая (*n*=86), тяжелая персистирующая (*n*=24), для проведения сравнительного анализа распределения генотипов между ними. Результаты. Частота встречаемости генотипа *Arg16Arg* гена *ADRB2* (20,7%) в группе пациентов с наиболее легкой интермиттирующей степенью БА была достоверно выше в 3,4 раза, чем в остальных случаях (*p*=0,05), при этом в подгруппе с тяжелым течением БА указанный генотип отсутствовал. Анализ ассоциации полиморфного локуса *Gln27Glu* гена *ADRB2* с течением БА показал, что частота носителей генотипа *Glu27Glu* в подгруппе с интерметитирующей БА также была выше в 2 раза по сравнению с другими подгруппами, однако это различие не было статистически достоверным. Заключение. Полученные результаты могут быть использованы в качестве дополнительных молекулярно-генетических критериев прогноза течения БА. Наличие генотипа *Arg16Arg* гена *ADRB2* ассоциировано с интермиттирующей БА легкой степени тяжести.

27. ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ POLD3, RAD54B, MUS81 И RAD51 В КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЯХ РАКА ЖЕЛУДКА

Гавриш К.В.¹, Филоненко В.В.², Киямова Р.Г.^{1,2}

¹Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань, Россия; ²Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, Украина

E-mail: kristinahavrysh@gmail.com

Рак желудка (РЖ) является третьей причиной смерти от рака во всем мире. Эффективность терапии РЖ значительно варьирует среди пациентов, поэтому поиск новых маркеров является актуальной задачей персонализированной медицины. Целью работы было определить корреляцию уровня экспрессии генов, вовлечённых в процесс гомологической рекомбинации (ГР) с чувствительностью клеточных линий рака желудка к действию химиопрепаратов, направленных на повреждение ДНК. Данные экспрессии 15 генов (BLM, BRCA2, EME1, MRE11A, MUS81, NBN, POLD3, RAD50, RAD51, RAD52, RAD54B, RPA4, SHFM1, SYVP3, TOP3A), вовлечённых в процесс ГР в клетках 38 клеточных линий РЖ, а также данные IC₅₀ 12 химиопрепаратов, повреждающих ДНК, были получены с использованием баз данных CCLE (www.broadinstitute.org/ccle) и GDSC (<http://www.cancerrxgene.org/>). Сравнительный анализ уровня экспрессии генов в чувствительных (IC₅₀<медианы) и резистентных (IC₅₀>медианы) клеточных линиях к ДНК-повреждающим агентам проводили с помощью программы R (<http://www.r-project.org>). Сравнение уровня экспрессии исследуемых генов в клеточных линиях показало, что экспрессия гена POLD3 имела обратную корреляцию с IC₅₀ цисплатина (p = 0,037); гена RAD54B - с IC₅₀ цитарабина (p = 0,029); а экспрессия генов MUS81 и RAD51 - с IC₅₀ доксорубина (p = 0,37 и 0,022 соответственно).

Полученные результаты позволяют рассматривать уровень экспрессии генов POLD3, RAD54B, MUS81 и RAD51 в качестве потенциальных предиктивных маркеров эффективности ответа на химиопрепараты, повреждающие ДНК.

28. ОНКОСУПРЕССОРНЫЕ ФУНКЦИИ РНК-ХЕЛИКАЗЫ BELLE В СЕМЕННИКАХ D. MELANOGASTER

Годнеева Б.К.^{1,2}, Котов А.А.¹, Оленина Л.В.¹

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; ²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: bairagodneeva@gmail.com

Мы исследовали функции РНК-хеликазы Belle в соматических клетках семенников D. melanogaster в поддержании сперматогенеза. RNAi-нокдаун belle в соматических клетках приводил к формированию больших кластеров мелких герминальных клеток, которые не вступали в дальнейшую дифференцировку. Измерив распределение белка бета-катенина, необходимого для адгезионных контактов между герминальными и соматическими клетками, мы показали, что у экспериментальных самцов такая адгезия нарушается. Иммуноокрашивание антителами к маркеру митозов pS10H3 показало, что на фоне нокдауна belle герминальные клетки в кластерах делятся независимо от близости к нише и асинхронно. Подобный фенотип был обнаружен при нарушениях сигнальных путей BMP и EGFR. Вестерн-блот анализ показал снижение экспрессии фактора Spitz (лиганд пути EGFR), но при этом активация белка ERK (последний компонент MAP-киназного каскада пути EGFR) соответствовала норме. Мы наблюдали увеличение экспрессии белков Gbb (лиганд BMP-пути) и pSmad (конечный эффектор BMP-пути) в опытных семенниках. Таким образом, RNAi-нокдаун belle в соматических клетках приводит к гиперактивации компонентов сигнального пути BMP в герминальных клетках. Отсутствие экспрессии Belle в соматических клетках приводит к нарушению их внутренней дифференцировочной программы, к нарушению развития и дифференцировки герминальных клеток и к аресту сперматогенеза.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00507 мол_а.

29. НОСИТЕЛЬСТВО ФЕНИЛКЕТОНУРИИ В КАРАЧАЕВО-ЧЕРКЕССКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

Гундорова П.В., Зинченко Р.А., Поляков А.В.

Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

E-mail: p_gundorova@inbox.ru

Фенилкетонурия является частым заболеванием в Карачаево-Черкесской Республике. По данным неонатального скрининга частота заболевания составляет около 1:1000 новорожденных (в среднем по России - 1:7000). Исследуемую в данной работе выборку составили 875 здоровых жителей республики (1750 хромосом) из городов Черкесска (102 чел.) и Карачаевска (54 чел.), Усть-Джегутинского (79 чел.), Малокарачаевского (98 чел.), Прикубанского (202 чел.), Абазинского (106 чел.), Ногайского (120 чел.), Хабезского (114 чел.) районов. Национальный состав выборки: карачаевцы – 363 чел., черкесы – 114 чел., абазинцы – 146 чел., ногайцы – 50 чел., русские – 130 чел. Образцы ДНК исследованы на наличие 6 частых в республике мутаций гена PAH: R261X, F331S, R413P, P211L, P211T, R408W, суммарная аллельная частота которых составляет 77% в выборке больных ФКУ и ГФА. Среди карачаевцев мутация в гетерозиготном состоянии выявлена у 32 человек, среди черкесов – у 2, среди абазинцев – у 3, среди ногайцев – у 2, среди русских – у 3. Расчетная частота гетерозиготного носительства и частота заболевания в каждой этнической группе составила соответственно 1:9 человек и 1:343 новорожденных среди карачаевцев, 1:47 и 1:8653 среди черкесов, 1:40 и 1:6308 среди абазинцев, 1:50 и 1:9911 среди ногайцев, 1:35 и 1:5000 среди русских. При том, что карачаевцы составляют лишь 40% населения Карачаево-Черкессии, они вносят основной вклад в высокую частоту ФКУ в республике. Среди зарегистрированных больных ФКУ и ГФА карачаевцы составляют 90%.

30. СРАВНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ZNF В ОБРАЗЦАХ ЗДОРОВОЙ ТКАНИ И ОБРАЗЦАХ ТКАНИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Гусева П.А.¹, Акберова Н.И.¹, D'Souza J.², Серебрянский И.Г.^{1,2}, Мухамадеева Р.А.¹

¹Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань, Россия; ²Fox Chase Cancer Center, Филадельфия, США

E-mail: Poletto1996@gmail.com

Транскрипционные факторы типа «цинковый палец» (ZNF) на данный момент активно изучаются. Выяснилось, что в образцах гастроинтестинальной стромальной опухоли, которые не реагируют на противоопухолевый препарат, имеется повышенный уровень экспрессии ZNF генов. Эти гены участвуют в образовании в различных раковых опухолях, так же и в образовании рака молочной железы (РМЖ). РМЖ на данный момент является вторым по частоте смертности онкологическим заболеванием в мире. Целью работы было сравнить уровни экспрессии ZNF генов в здоровых тканях и образцах опухолевой ткани РМЖ и выявить их корреляцию со стадией заболевания. Экспериментально определенные уровни экспрессии генов ZNF были получены с использованием базы данных The Cancer Genome Atlas (TCGA) с помощью пакета TCGAblinks в программе R. Сравнительный анализ уровня экспрессии генов в образцах здоровой ткани и опухолевой ткани был выполнен в программе R с помощью следующих статистических методов: параметрический - t-критерий Стьюдента, непараметрический метод Манна-Уитни. Сравнение уровня экспрессии исследуемых генов показало, что гены ZNF91, ZNF43, ZNF85, ZNF100, ZNF254 имеют повышенный уровень экспрессии в опухолевых образцах более чем на 20%, нежели в здоровых тканях, и положительно коррелируют со стадией заболевания. У остальных генов повышенный уровень экспрессии не наблюдался. Полученные результаты позволяют сделать предположение о том, что ZNF гены могут иметь клиническое значение, поскольку ZNF гены - факторы транскрипции, повышенный уровень их экспрессии может приводить к ингибированию генов, которые необходимы для развития опухоли.

31. P53-НЕЗАВИСИМАЯ РОЛЬ УБИКВИТИНЛИГАЗЫ PIRH2 В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

**Дакс А.А.¹, Меркулов В.О.¹, Петухов А.В.^{1,2}, Федорова О.А.¹, Шувалов О.Ю.¹,
Васильева Е.А.¹, Барлев Н.А.¹**

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия; ²Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова Минздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: alexandra.daks@gmail.com

Белок Pirh2 – продукт гена *RCHY1* человека – является RING-домен содержащей E3 лигазой, осуществляющей убиквитинирование онкосупрессора p53 и направляющей его на протеасомную деградацию. При этом p53 активирует экспрессию гена *RCHY1*, формируя таким образом замкнутую цепь обратной регуляции. Таким образом, являясь негативным регулятором p53, Pirh2 способствует канцерогенезу. Однако стоит отметить, что множество типов раковых опухолей характеризуется либо отсутствием p53, либо мутациями в нем, и роль белка Pirh2 в таких клетках изучена недостаточно. Цель нашего исследования заключается в исследовании влияния белка Pirh2 на туморогенный потенциал клеток линии немелкоклеточной карциномы легкого (НМККЛ) человека H1299, в которой отсутствует p53. Мы обнаружили, что повышение экспрессии Pirh2 способствует увеличению скорости пролиферации и миграционного потенциала данных клеток, а также повышает их устойчивость к генотоксическому агенту доксорубину. При этом нокдаун Pirh2 с использованием малых шпилечных РНК вызывает обратный эффект. Мы также показали, что Pirh2 вызывает повышение экспрессии онкогена c-Мус, как на уровне мРНК, так и на уровне белка, что может частично объяснить механизм Pirh2-индуцированного повышения туморогенного потенциала клеток.

Полученные нами данные свидетельствуют в пользу того, что в клетках НМККЛ H1299 Pirh2 является онкогеном и может рассматриваться как потенциальная мишень для разработки терапии p53-негативных опухолей.

Работа поддержана грантами РФФИ 16-34-00869 мол_а и 16-34-60228 мол_а_дк.

32. ЭНХАНСЕРЫ В ЛОКУСАХ МАСТЕР-ГЕНОВ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Дидыч Д.А., Алексеенко И.В., Свердлов Е.Д.

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

E-mail: dmitry_D@inbox.ru

Согласно современным представлениям, энхансеры – одни из главных цис-регуляторных элементов генома, определяющие клеточную специфичность экспрессии генов. В недавних работах было показано, что положение кластеров энхансеров, названных суперэнхансерами, может указывать на гены, кодирующие мастер-регуляторы, на онкогены и другие гены, вовлеченные в процесс опухолеобразования. В данной работе с использованием различных баз данных мы провели анализ распределения известных суперэнхансеров и энхансеров, участков связывания транскрипционных факторов и областей чувствительности к ДНКазе I в локусах 42 генов, предположительно относящихся к мастер-генам поджелудочной железы (PDX1, PTF1A, FOXA2 и др.). Были определены локусы с высоким содержанием областей, имеющих цис-регуляторный потенциал. С использованием базы данных FANTOM5 (DOI: 10.1186/s13059-014-0560-6) определена специфичность и универсальность экспрессии исследуемых генов. Сопоставление полученных данных позволяет определить возможные независимые функциональные домены исследуемых генов. Согласно изученным характеристикам исследуемые локусы были распределены по группам. Результаты работы позволяют выделить гены-кандидаты для наших дальнейших исследований по изучению цис-регуляторных систем мастер-генов поджелудочной железы в нормальных и раковых клетках. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-50-00131).

33. ОЦЕНКА СЕЛЕКЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

Дробот Н.И.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

E-mail: nadin.drobot@yandex.ru

Проведен анализ аллельного состава генов короткостебельности *Rht* и устойчивости к предуборочному прорастанию зерна *Viviparous* (*Vp-1*) у 8 пшенично-ржаных замещенных линий с различными типами R(A)-, R(B)- и R(D)-замещений хромосом (анализировался состав генов *RhtB1*, *Rht8*, *Rht-D1* и *Vp1B*) и 33 линий рекомбинантных тритикале с интрогрессией хромосом D-генома пшеницы в виде D(A)- и D(B)-замещений (гены *RhtB1* и *Vp1B*). Установлено, что все замещенные линии пшеницы и большинство линий тритикале (22) содержат в гомозиготном состоянии аллель *Vp-1Bc* гена *Viviparous*, ассоциированный с устойчивостью к прорастанию зерна в колосе. Мутантный аллель гена короткостебельности *Rht-B1b*, обеспечивающий существенное снижение высоты растений, выявлен в гомозиготном состоянии у 20 линий тритикале. Все замещенные линии пшеницы содержат дикие аллели генов *RhtB1* и *Rht8* и в подавляющем большинстве являются гетерозиготными по аллельному составу гена *Rht-D1*, что в целом свидетельствует о низкой селекционной значимости данного материала в плане создания устойчивых к полеганию сортов. По результатам анализа для дальнейших пребридинговых исследований выделены 10 линий рекомбинантных тритикале, сочетающих в своих генотипах мутантные аллели гена *Rht-B1* и гена *Vp-1B*.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта БРФФИ Б15СО-030.

34. ОБРАТИМОЕ ИЗМЕНЕНИЕ СУПРЕССОРНОГО ФЕНОТИПА У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Дроздова П.Б., Журавлева Г.А.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: p.drozdova@spbu.ru

Дрожжи *S. cerevisiae* — один из наиболее распространённых модельных объектов современной биологии. Этот объект применяют в том числе для изучения анеуплоидии, поскольку у дрожжей можно получить большое количество жизнеспособных мутантов с изменённым числом хромосом, а также для изучения амилоидогенеза, поскольку у дрожжей обнаружены собственные инфекционные амилоиды, или прионы. В литературе есть сведения о не менее чем десяти дрожжевых прионах, многие из которых участвуют в регуляции трансляции. Наша работа посвящена фенотипу *Isp+*, предположительно вызываемому прионом [ISP+]. Механизм формирования этого фенотипа (снижения эффективности супрессии некоторых нонсенс-мутаций) не до конца понятен. С помощью анализа профилей экспрессии генов и полногеномного секвенирования мы показали, что клоны *Isp+* и *Isp-* различаются по копиям некоторых хромосом. Более подробный анализ показал, что изменение фенотипа с *Isp+* на *Isp-* при выращивании клеток в присутствии гидрохлорида гуанидина, универсального антиприонного агента, обусловлено появлением дополнительной хромосомы II, а возвращение к фенотипу *Isp+* — с потерей этой хромосомы. Таким образом, мы обнаружили и изучили необычный пример относительно стабильной анеуплоидной комбинации хромосом, по некоторым особенностям своего фенотипического проявления сходной с прионным детерминантом. Работа выполнена при поддержке грантов СПбГУ 15.61.2218.2013, 1.37.291.2015 и 1.42.1394.2015, а также НШ-9513.2016.4 и РЦ “РМИКТ” СПбГУ.

35. КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПОИСК СОЕДИНЕНИЙ, АКТИВНЫХ ПО ОТНОШЕНИЮ К КЛЕТОЧНЫМ ЛИНИЯМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Дубовская В.И.¹, Лагунин А.А.^{1,2}, Погодин П.В.^{1,2}, Поройков В.В.¹

¹НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия; ²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

E-mail: odnojnogoj@gmail.com

Онкологические заболевания являются одной из основных причин смертности в мире. Существование опухолей, резистентных к традиционным терапевтическим воздействиям, требует создания новых лекарств. Поиск эффективной терапии усложняется гистологическим, морфологическим и генетическим разнообразием злокачественных новообразований.

Для создания подхода к компьютерному прогнозированию цитотоксического действия лекарственных-подобных веществ на опухолевые и неопухолевые клеточные линии человека был использован многоступенчатый скрининг *in silico*. Список потенциальных мишеней для воздействия на клеточные линии РМЖ человека был получен с помощью метода дихотомического моделирования регуляторных сетей. QSAR анализ зависимостей «структура-активность» лег в основу программы для предсказания действия низкомолекулярных химических соединений на белки человека.

Экспериментально протестированы 49 химических соединений в отношении 24 клеточных линий ракам молочной железы человека, отсутствию цитотоксичности в отношении 31 неопухолевой клеточной линии, действию на найденные противоопухолевые мишени и хорошей предсказанной растворимости. Восемь соединений проявили активность в отношении клеточных линий РМЖ MDA-MB-231 и MCF7 с IC₅₀ от 0,8 до 50 мМ. Пять из этих соединений проявили значительно более низкую активность в отношении фибробластов человека, два соединения показали избирательную цитотоксичность в отношении определенной клеточной линии РМЖ.

36. РОЛЬ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА НЕЙРЕКСИНОВ (*CNTNAP2* И *NRXN1*) В РАЗВИТИИ МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ТРЕВОЖНОСТИ

Еникеева Р.Ф.¹, Казанцева А.В.², Романова А.Р.¹, Хуснутдинова Э.К.^{1,2}

¹Башкирский государственный университет, Уфа, Россия; ²Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

E-mail: kanzafarova.renata@yandex.ru

В современном обществе наличие трудностей при использовании математических операций (зачастую связанное с развитием математической тревожности, МТ) негативно сказывается на успешности человека. К настоящему времени нет опубликованных работ, демонстрирующих конкретные системы и гены, вовлеченные в формирование различий в уровне МТ. Гены, кодирующие белки, участвующие в регуляции синаптической пластичности (в частности *NRXN1* и *CNTNAP2*) и ассоциированные с когнитивными характеристиками, могут являться кандидатами при изучении МТ. Целью данного исследования являлась оценка основного эффекта полиморфных локусов генов *CNTNAP2* (s2710102 и rs2530310) и *NRXN1* (rs1045881 и rs4971648), а также эффекта гаплотипов, ген-средовых (GxE) взаимодействий в формировании математической тревожности у 523 здоровых индивидов. В результате GxE анализа было установлено, что индивиды, родившиеся не вторыми в семье ($\beta = -6,77$; $P = 0,021$) и/или воспитанные в семье менее чем с тремя детьми ($\beta = -10,37$; $P = 0,012$) при наличии у них аллеля rs2530310*А в гене *CNTNAP2* демонстрировали повышенную МТ. Полученные данные указывают на модулирующий эффект средовых факторов («порядка рождения» индивида и «числа детей в семье») на выявление ассоциации гена *CNTNAP2* с межиндивидуальными различиями в уровне МТ.

37. УВЕЛИЧЕНИЕ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ

Ермакова А.В., Велегжанинов И.О.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

E-mail: ermakova_a.v@ib.komisc.ru

Ранее (при совместных исследованиях Института биологии Коми НЦ УрО РАН и Chalk River Laboratories of Atomic Energy of Canada Limited) при облучении фибробластов легких эмбриона человека (Hfl1) в малых дозах на ранних пассажах был обнаружен феномен радиационно-индуцированного замедления клеточного старения. В данной работе мы выявили детализованную дозовую зависимость данного эффекта (диапазон доз составлял от 0 до 5 сГр) и оценили динамику пролиферации фибробластов человека ФЛЭЧ-104, облучённых в дозах, вызывающих замедление клеточного старения.

Максимальная задержка накопления стареющих клеток в культуре наблюдалась после облучения в дозе 3 сГр. При этом в первые дни происходило замедление пролиферации фибробластов, а затем значительное её ускорение, сохранявшееся до поздних пассажей. Таким образом, мы можем говорить о радиационно-индуцированном повышении пролиферативного потенциала клеток.

Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 16-34-00367.

38. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МНС I ТЕТРАМЕРОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ Т-КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА НА ГЕРПЕСВИРУСЫ

Ефимова П.Р., Вдовин А.С., Филькин С.Ю., Ефимов Г.А.

Гематологический научный центр Минздрава РФ, Москва, Россия

E-mail: polina.efimova.epr@gmail.com

Активация оппортунистических вирусных инфекций – распространенное осложнение аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток крови. В результате предтрансплантационного кондиционирования и иммуносупрессии, проводимой для профилактики реакции «трансплантат против хозяина», происходит значительное ослабление Т-клеточного звена иммунитета, обеспечивающего защиту от вирусных инфекций. Противовирусная терапия далеко не всегда оказывается эффективной. Одним из наиболее перспективных подходов является *ex vivo* селекция специфических цитотоксических Т-клеточных клонов из донорской крови и их дальнейшая инфузия пациентам. В настоящей работе были сконструированы несколько рекомбинантных молекул главного комплекса гистосовместимости I класса (МНС I) в комплексе с различными CMV и EBV пептидами. Полученные в нашей лаборатории тетрамеры использовались для выявления вирус-специфических CD8⁺ Т-клеток во фракции периферических мононуклеарных клеток крови (РВМС) путем окрашивания и детекции методом проточной цитофлуорометрии. РВМС выделялись из крови больных после трансплантации стволовых клеток крови и здоровых доноров, имеющих соответствующую аллель МНС. Данные мультимеры позволяют эффективно выявлять вирус-специфические CD8⁺ Т-клетки в системной циркуляции и являются удобным инструментом для оценки состояния и мониторинга динамики клеточного звена противовирусного иммунитета у пациентов. В дальнейшем с помощью тетрамеров планируется отбор доноров для адоптивного переноса вирус-специфических лимфоцитов, а также анализ динамики пролиферации перенесенных донорских клеток у пациентов.

39. ВНУТРИПОЛОСТНАЯ ЖИДКОСТЬ БЛАСТОЦИСТЫ ЧЕЛОВЕКА КАК НОВЫЙ ИСТОЧНИК ИНФОРМАЦИИ О КАРИОТИПЕ ЭМБРИОНА

Жигалина Д.И.¹, Скрыбин Н.А.^{1,2}, Канбекова О.Р.³, Артюхова В.Г.⁴, Лебедев И.Н.^{1,2}

¹Томский государственный университет, Томск, Россия; ²НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск, Россия; ³Областной перинатальный центр, Томск, Россия; ⁴Красноярский центр репродуктивной медицины, Красноярск, Россия

E-mail: darya.zhigalina@medgenetics.ru

Внеклеточная ДНК (внДНК) из полости бластоцисты может быть использована для получения информации о кариотипе клеток, погибших в ходе развития эмбриона. С помощью аСГН нами впервые было проведено сравнение молекулярных кариотипов внДНК, клеток эмбриобласта (ЭБ) и трофэктодермы (ТЕ) 8 бластоцист, полученных после подписания информированного согласия пациентами, проходящими циклы ЭКО. Для каждой бластоцисты был проведен забор внутриполостной жидкости и разделение ЭБ и ТЭ. По результатам анализа ЭБ и ТЭ только одна бластоциста оказалась эуплоидной, хотя в жидкости из её полости было найдено 7 aberrаций, что указывает на наличие механизмов элиминации клеток с аномалиями кариотипа. Единичные хромосомные aberrации были отмечены в клетках 3 бластоцист, а множественные в 4 бластоцистах. Трисомии, моносомии, частичные три- и моносомии встречались с частотой 28%, 53%, 14% и 5%, соответственно. Соотношение трисомий и моносомий в жидкости, ЭБ и ТЭ составило 1:2,2, 1,6:1, 1:1,8, соответственно, что свидетельствует о преимущественной элиминации из внутренней клеточной массы моносомных клеточных клонов. Впервые отмечено 5 случаев реципрокных анеуплоидий, т.е. сочетаний трисомий и моносомий по одной хромосоме, 3 из которых были обнаружены благодаря анализу внДНК. Частота реципрокных аномалий составила 23% от общего числа выявленных анеуплоидий. Весьма вероятно, что эти aberrации возникли *de novo* в результате митотических ошибок. Таким образом, использование внДНК позволяет описать новые механизмы возникновения и элиминации числовых хромосомных нарушений в раннем онтогенезе человека.

40. ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННОЙ АНАЛИЗ γ H2AX/53BP1 ФОКУСОВ В ТРЕКАХ УСКОРЕННЫХ ИОНОВ

Заднепрянец М.Г.^{1,2}, Борейко А.В.^{1,2}, Буланова Т.С.^{1,2}, Йежкова Л.^{1,3}, Круглякова Е.А.^{1,2}, Смирнова Е.В.¹

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия; ²Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия; ³Химико-технологический университет, Прага, Чехия

E-mail: marysaveleva@mail.ru

Целью данной работы является исследование закономерностей формирования и структуры кластерных двунитевых разрывов (ДР) ДНК в фибробластах человека в треках ускоренных тяжелых ионов ^{11}B (ЛПЭ = 135 КэВ/мкм, $E = 8,4$ МэВ/нук) и ^{20}Ne (ЛПЭ = 166 КэВ/мкм, $E = 35$ МэВ/нук) и сравнительный анализ индукции и эффективности репарации ДР ДНК при действии γ -квантов ^{60}Co и ускоренных тяжелых ионов ^{11}B и ^{20}Ne на фибробласты кожи человека. В качестве маркеров ДР ДНК использовали гистон γH2AX и репарационный белок 53BP1. Показано, что при облучении ускоренными тяжелыми ионами репарация ДР ДНК замедлена по сравнению с действием γ -квантов, что может быть связано с формированием труднорепазируемых кластерных ДР ДНК. Установлено изменение размера и формы $\gamma\text{H2AX}/53\text{BP1}$ фокусов в течение пострадиационного периода, а также усложнение их структуры при действии ускоренных тяжелых ионов, что не наблюдается при γ -облучении.

41. ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ РАЗНЫХ ВИДОВ РОДА *DROSOPHILA*

Земская Н.В.^{1,2}, Москалёв А.А.^{1,2}

¹Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия; ²Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, Сыктывкар, Россия

E-mail: kukushonok90@yandex.ru

Существуют доказательства связи между стрессоустойчивостью и долголетием среди различных линий одного вида живых организмов. Долгоживущие линии часто относительно более устойчивы к различным видам стресса. В то же время короткоживущие мутанты модельных организмов, напротив, гиперчувствительны к неблагоприятным факторам среды. Подобные связи можно проследить, сравнивая разные виды между собой. Недостатком большинства современных исследований является то, что генетические сравнения проводятся между эволюционно далеко отстоящими друг от друга видами (грызуны, летучие мыши, человек) и многие выявленные закономерности, связанные со старением, на самом деле могут иметь лишь отдаленное отношение к проблеме. Поэтому целью настоящего исследования являлось оценить различия в стрессоустойчивости у нескольких видов внутри одного рода дрозофила, которые значительно отличаются по продолжительности жизни.

Мы исследовали 12 видов рода *Drosophila*, оценили их продолжительность жизни, устойчивость к окислительному стрессу (20 mM паракват), гипертермии (35 °C), голоданию, а также радиоустойчивость.

Изученные нами виды дрозофил показали разную реакцию на стресс-факторы. Наибольшую продолжительность жизни и стрессоустойчивость во всех исследованиях, кроме радиоустойчивости, показали особи *D.virilis*. Также относительно высокую устойчивость показали особи видов *D.kikkawai* (окислительный стресс), *D. pseudoobscura* (гипертермия), *D.biarmipes* (голодание) и *D.simulans* (радиоустойчивость). Полученные данные показали зависимость между продолжительностью жизни и стрессоустойчивостью видов дрозофил.

42. ПРИЧИНА ВЫСОКОЙ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ МУТАЦИИ P.ARG894* ГЕНА *CLCN1* В РОССИИ

Иванова Е.А., Поляков А.В.

Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

E-mail: E_Ivanova@dnalab.ru

Недиistroфические миотонии относятся к многочисленному семейству болезней ионных каналов или каналопатий и делятся на хлорные и натриевые согласно этиопатогенезу. Хлорные миотонии Томсена и Беккера обусловлены мутациями гена *CLCN1* и встречаются в России намного чаще, чем было принято считать до введения в клиническую практику молекулярно-генетической диагностики. По результатам молекулярно-генетического исследования расчетная частота доминантной миотонии Томсена и рецессивной миотонии Беккера оценивается в 1: 710 (95%ДИ = 1/5000 – 1/145) и 1:8165 (95%ДИ = 1/31746 – 1/26) соответственно. Высокая распространенность миотонии Беккера обусловлена большой частотой одной из рецессивных мутаций гена *CLCN1* - p.Arg894*. Популяционная частота носительства данной мутации составляет 1,2% (95%ДИ = 0,6% - 2%). В результате анализа сцепления микросателлитных маркеров и внутригенных SNP с мутацией p.Arg894* гена *CLCN1* был выявлен общий гаплотип для хромосом с мутацией, который представлен пятью аллелями T-T-A-1-3 маркеров rs2272251-rs4489232-rs6464546-rs151000993-D7S661. Причиной высокой распространенности мутации p.Arg894* гена *CLCN1* является эффект «основателя». Высокая частота носительства нонсенс-мутации p.Arg894* в популяции увеличивает риск образования семейной пары между больным рецессивной формой миотонии и носителем данной мутации в гетерозиготном состоянии. Риск рождения ребенка с миотонией Беккера в такой семье составляет 50%.

43. РОЛЬ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ ДОМЕНА FINGERS В РЕПЛИКАЦИИ ПОВРЕЖДЕННОЙ ДНК POL ETA *S. CEREVISIAE*

Игнатов А.В., Кульбачинский А.В., Макарова А.В.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: amakarova-img@yandex.ru

ДНК-полимераза эта (Pol eta) играет важную роль в репликации поврежденной ДНК у эукариот. Для лучшего понимания механизмов репликации поврежденной ДНК Pol eta мы проанализировали роль аминокислотных остатков домена fingers при включении нуклеотидов напротив АП-сайтов, 8-охо-G, тимидин гликоля и *T-T* пиримидиновых димеров на примере Pol eta *S. cerevisiae*. Получены биохимические доказательства ключевой роли остатков Q55 и R73 (соответствуют Q38 и R61 у Pol eta человека) в репликации ДНК с *T-T* димерами и АП-сайтами. Показано, что мутации Q55A и R73A лишь незначительно снижают ДНК-полимеразную активность Pol eta при репликации неповрежденной ДНК, но приводят к почти полной потере способности Pol eta к синтезу на ДНК-матрице, содержащей Т-Т пиримидиновые димеры. В случае ДНК-матрицы с АП-сайтом, мутация Q55A снижает эффективность репликации, а замена R73A изменяет специфичность включения нуклеотидов. Кроме того, варианты Pol eta с заменами Q55A и R73A демонстрируют повышенную точность включения нуклеотидов напротив остатка 8-охо-G. Таким образом, аминокислотные остатки Q55 и R73 выполняют важную роль в катализе при репликации поврежденной ДНК, предположительно, обеспечивая особую геометрию активного центра Pol eta и контакты фермента с dNTP.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (15-34-70002), фонда Династия и стипендии Президента РФ.

44. РЕПЛИКАЦИЯ ПОВРЕЖДЕННОЙ ДНК POL ETA ЧЕЛОВЕКА И *S. CEREVISIAE*

Игнатов А.В., Шилкин Е.С., Бондаренко К.А., Кульбачинский А.В., Макарова А.В.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: amakarova-img@yandex.ru

ДНК-полимераза эта (Pol eta) играет важную роль в репликации поврежденной ДНК у эукариот. Нами проведен сравнительный анализ эффективности и точности репликации Pol eta человека и дрожжей *S. cerevisiae* на ДНК, содержащей распространенные и биологически значимые повреждения ДНК: АП-сайты, 8-охо-G, тимидин гликоль, Т-Т пиримидиновые димеры, etheno-A и Об-me-G. С наибольшей эффективностью и точностью Pol eta человека и дрожжей включают нуклеотиды напротив Т-Т димеров, тогда как наличие etheno-A в матричной цепи ДНК полностью блокирует работу фермента. Наличие 8-охо-G в матричной ДНК приводит к значительному снижению точности репликации: Pol eta включает напротив 8-охо-G комплементарный dCTP и некомплементарный dATP примерно с одинаковой эффективностью. Напротив тимидин гликоля Pol eta включает нуклеотиды с достаточно высокой точностью, однако это сопровождается умеренным падением эффективности синтеза. Таким образом, Pol eta дрожжей и человека обладают сходными свойствами при репликации поврежденной ДНК.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (15-34-70002), фонда Династия и стипендии Президента РФ.

45. ОЦЕНКА БИОБЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ RNAi СОРТОВ РАСТЕНИЙ

Камбурова В.С., Имамходжаева А.С., Шерматов Ш.Э., Абдурахмонов И.Ю.

Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

e-mail: venera_k75@mail.ru

Несмотря на то, что технология РНК интерференции (RNAi) является наиболее безопасной, тем не менее, RNAi сорта относят к продуктам генной инженерии и, следовательно, они также подвергаются оценке их безопасности. Для оценки возможного риска RNAi сортов растений существуют задачи до и после развития RNAi. При предварительной разработке RNAi сорта важным шагом является дизайн dsRNA фрагмента. При этом необходимо провести тщательный *in silico* анализ для выявления всех возможных видов siRNA, а также их предполагаемых мишеней в геномах ключевых потребителей с использованием целевых поисковых алгоритмов из доступных геномных баз данных генома. Если обнаружено непреднамеренное таргетирование или высокоспецифичное соответствие генома потребителя, то кандидатная dsRNA должна быть изменена и оптимизирована для устранения непреднамеренных эффектов. Если dsRNA влияет только на искомую функцию, то следующий шаг заключается в разработке RNAi сорта и начале пост-RNAi тестирования сорта. Этот этап включает в себя: 1) оценку RNAi сорта на проявление искомого признака; 2) экспериментальное количественное определение уровня адресного подавления экспрессии генов; и 3) сравнительное секвенирование профиля последовательностей siRNA до и после РНК-интерференции, а также сравнительное исследование протеомных и метаболомных профилей. 4) оценка безопасности новых сортов в культуре клеток/тканей и далее в экспериментах на модельных животных. Эти шаги позволят оценить возможный биологический риск использования RNAi сорта и его продукции или доказать его полную безопасность.

46. РОЛЬ FGFR/ERK ПУТИ В РЕГУЛЯЦИИ mTOR-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ МЫШИ ПРИ УДАЛЕНИИ LIF

Каминская А.Н., Пospelов В.А.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: kaminskayaan@mail.ru

LIF необходим для пролиферации и плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток мыши (мЭСК). Удаление LIF активирует mTOR путь, при этом выключается LIF/STAT3 и активируется FGFR/ERK, что обеспечивает переход от наивного состояния мЭСК к праймированному. Используя ингибитор AZD4547, изучали роль FGFR в регуляции mTOR пути в «праймированных» удалением LIF мЭСК. Удаление LIF из среды не меняет параметры клеточного цикла мЭСК. Добавление AZD4547 (24ч, 500нМ) увеличивает долю клеток в G1 и снижает долю S-фазных клеток. Согласно МТТ-тесту и кривой роста AZD4547 за 2ч (500нМ или 1мкМ) увеличивает доли выживших клеток, однако при инкубации 24ч ведет к снижению выживаемости мЭСК. AZD4547 (500нМ, 24ч) снижает уровень p-mTOR и ее мишеней - pS6 и p4EBP1. Инкубация мЭСК с PD0325901 (ингибитором MEK) приводит к увеличению pS6 и p4EBP1, указывая на то, что помимо ERK1/2 в подавлении активности mTOR и в переключении от наивного состояния мЭСК к праймированному участвует другая киназа. При иммунофлуоресцентном окрашивании инкубация мЭСК с AZD4547 (2ч, 500нМ) приводит к образованию крупных кластеров, содержащих LC3 и p62 в цитоплазме мЭСК, в аутофагосомах. В контроле LC3 образует небольшие гранулы, а p62 равномерно распределен в цитоплазме. Согласно вестерн-блоту, LC3-II и p62 в мЭСК увеличивается при инкубации с AZD4547 (2ч, 500нМ). Таким образом, воздействие AZD4547 подавляет mTOR-сигнальный путь в «праймированных» мЭСК независимо от MEK/ERK1/2. Аутофагия в мЭСК, инициированная удалением LIF, усиливается в присутствии AZD4547, тем не менее, не доходит до конечной стадии ввиду накопления p62.

47. ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМБИНАЦИИ ПРОТЕАЗЫ 3С ВИРУСА ГЕПАТИТА ЧЕЛОВЕКА И ГИБРИДНОГО БЕЛКА FCU1

Карасева М.А., Комиссаров А.А.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: mori-k@yandex.ru

В рамках разработки генно-терапевтических лекарственных средств многообещающим является подход, основанный на комбинировании терапевтических генов, продукты которых обладают разными механизмами действия. В данной работе нами впервые оценен цитотоксический эффект при совместном действии протеазы 3С вируса гепатита А человека (3С) и суицидальной системы, состоящей из гена слитого белка дрожжевых цитозиндезаминазы/фосфорибозилтрансферазы (FCU1) и пролекарства 5-фторцитозина (5-ФЦ). Для этого гены FCU1 и 3С были интегрированы в составе бицистронной экспрессионной плазмиды с использованием последовательности кодирующей 2А-пептид вируса Тешена свиней. Для оценки цитотоксического действия использовались линии клеток человека НЕК293 и HeLa. Было установлено, что цитотоксическое действие FCU1 и 3С протеазы проявляется по-разному. При индивидуальном действии FCU1/5-ФЦ количество жизнеспособных клеток в культуре уменьшалось постепенно и максимальный эффект наблюдался к 168 ч после трансфекции (п.т.). Наибольший эффект 3С, напротив, был обнаружен в первой экспериментальной точке (24 ч п.т.), а затем количество жизнеспособных клеток увеличивалось и практически сравнивалось с контролем. Комбинация же генов FCU1 и 3С обеспечивает цитотоксическое действие, сравнимое с эффектами, наблюдаемыми при экспрессии генов в составе моноцистронных конструкций. При этом комбинирование генов FCU1 и 3С приводит к суммированию цитотоксических эффектов, не препятствуя проявлению цитотоксического действия каждой из них.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-14-00526).

48. ЦИРКУЛЯЦИЯ ВИРУСА ГЕПАТИТА С В ХАБАРОВСКОМ КРАЕ

Карлсен А.А.¹, Соболева Н.В.², Исаева О.В.¹, Кюрегян К.К.¹, Троценко О.Е.³, Михайлов М.И.¹

¹Российская медицинская академия последипломного образования Минздрава РФ, Москва, Россия; ²Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова, Москва, Россия; ³Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, Хабаровск, Россия

E-mail: karlsen12@gmail.com

Одной из важнейших проблем здравоохранения является гепатит С. Хроническая инфекция, вызванная вирусом гепатита С (ВГС), чаще всего имеет длительное бессимптомное течение, и остается невыявленной у большой доли инфицированных лиц. Проведенное нами сероэпидемиологическое исследование показало, что в Хабаровском крае частота выявления ВГС в несколько раз превышает среднероссийский показатель (анти-ВГС: 9,3% против 3,7% ($p < 0,01$), РНК ВГС: 4,1% против 1,6% ($p < 0,01$)). Для реконструкции истории распространения ВГС в Хабаровском крае проведен филогенетический и филодинамический анализ выявленных геновариантов вируса. По данным филогенетического анализа, 64,2% изолятов были генотипированы как 1b, 28,3% - 3a и 3 изолята были единичными представителями генотипов 1a, 2a и 2c. В результате филодинамического анализа было установлено, что генотип 2a был занесен в регион около 40 лет назад из Японии, 2c – 45 лет назад из Европы, 1a - из Европы около 35 лет назад. Генотип 3a многократно заносился на данную территорию. Первые заносы были из Индии и Пакистана, потом – из Европы, последние заносы (порядка 20 лет назад) имеют японское происхождение. Наиболее распространенный генотип 1b был занесен на данную территорию порядка 55-65 лет назад из Японии и США, и с тех пор циркулирует в виде нескольких самостоятельных штаммов. Таким образом, неоднократные заносы разных генотипов ВГС на территорию Хабаровского края происходили в 20 веке в разные временные интервалы. За последние 30 лет в регионе происходит устойчивая циркуляция ряда штаммов ВГС без заноса извне.

49. МОДИФИЦИРОВАННАЯ СИСТЕМА CRISPR/CAS КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОГО ПОДАВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПУТЕМ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК

Кизенко А.И.¹, Шувалов О.Ю.¹, Петухов А.В.^{1,2}, Барлев Н.А.¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия; ²Санкт-Петербургский государственный технологический институт, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: alyona.kizenko@gmail.com

Система CRISPR/Cas является своеобразным аналогом РНК-интерференции и играет роль приобретенного иммунитета у бактерий. Благодаря высокой эффективности и удобству в использовании, система CRISPR/Cas находит широкое применения в экспериментах по редактированию генома, изучению свойств и функций белков путем нокдауна и нокаута, визуализации определенных участков хромосом. CRISPR/Cas9 в примитивном виде включает в себя бактериальную эндонуклеазу Cas9 и синтетическую guide RNA (направляющую РНК), обеспечивающей специфичную доставку Cas9 к определенному участку генома. Однако, модификации белка Cas9 и включение в систему других эффекторных белков могут существенно увеличить эффективность работы системы и расширить спектр её действия. В данной работе была оценена возможность использования химерных вариантов белка dCas9, который сам по себе не обладает каталитической активностью, а служит направляющим элементом системы к нужной последовательности ДНК, для подавления транскрипции генов путем метилирования ДНК. Для этого были созданы конструкции, несущие последовательности определенных участков генов-эффекторов в слиянии с dCas9, а также вектора для экспрессии guideRNA, специфичных к различным участкам TP53, pRb, CHEK2. Полученными эписомальными векторами мы трансфецировали клеточную линию НЕК293Т. Далее мы производили оценку эффективности подавления экспрессии p53 вестерн-блотом. На данный момент ведется работа по созданию лентивирусных векторов для конститутивной экспрессии конструкций в эукариотических клетках. Разнообразие способов направленного специфического подавления экспрессии генов посредством CRISPR/Cas9 дает возможность использовать данную систему как в фундаментальных, так и в прикладных исследованиях. Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №14-50-00068.

50. КИНЕТИКА РЕПАРАЦИИ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ ДНК В НЕЙРОНАХ МЕЛКИХ ГРЫЗУНОВ *IN VIVO*

Кожина Р.А.^{1,2}, Кузьмина Е.А.¹, Чаусов В.Н.¹, Борейко А.В.^{1,2}

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия; ²Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

E-mail: reginka2195@gmail.com

В настоящее время особый интерес представляет изучение влияния тяжелых заряженных частиц на клетки центральной нервной системы: клетки Пуркинье и клетки гиппокампа. Закономерности индукции и репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК в нейронах головного мозга мышей были исследованы с использованием метода ДНК-комет.

В ходе экспериментов было показано, что с увеличением дозы облучения γ -квантами ⁶⁰Со формирование ДР ДНК линейно возрастает. После облучения наблюдается увеличение выхода ДР ДНК вплоть до 4 часов пострадиационной инкубации, после чего ДР ДНК элиминируются по экспоненциальной кинетике, значительная их часть восстанавливается, и к 24 ч репарация практически полностью завершается.

Полученные результаты существенно отличаются от кинетики репарации ДР ДНК *in vitro*. Это связано с тем, что в индукции и репарации ДР ДНК *in vivo* большую роль играют различные системы организма, влияющие на особенности протекания молекулярно-биологических реакций в реализации восстановительных механизмов после воздействия ионизирующей радиации.

51. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ И ДЛИНА ТЕЛОМЕР У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

Коляда А.К., Бельская В.В., Красненков Д.С., Вайсерман А.М., Карабань И.Н.

Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарёва НАМН Украины, Киев, Украина

E-mail: alex.genetic@gmail.com

Болезнь Паркинсона – второе по частоте встречаемости нейродегенеративное заболевание. Диагностика заболевания сильно затруднена в молодом возрасте, так как первые симптомы заболевания проявляются в среднем в 50-60 лет. В связи с этим особо перспективным представляется исследование в области молекулярной генетики, результаты которых смогут быть использованы в ранней диагностике заболевания. Целью данной работы было найти генетические маркеры болезни Паркинсона в Украинской популяции. Обследовано 600 пациентов и 550 неврологически здоровых людей. Генотипирование проводили с помощью метода PCR-RFLP и пиросеквенирования. Впервые в Украине проведено генотипирование по мажорными мутациями генов наследственных форм паркинсонизма *PARK2*, *LRRK2*, *SNCA* и *GBA*. При обследовании пациентов с БП в указанной выше выборке были выявлены 4 случая гетерозиготного носительства мутации G2019S в гене *LRRK2*. Три носителя мутации не имели семейного анамнеза, а один носитель был членом семьи с четким аутосомно-доминантным наследованием БП. Таким образом, суммарная частота данной мутации составила 0,8% в общей группе обследованных пациентов с БП. У двоих не связанных родством пациентов выявлена мутация L444P в 10-м экзоне гена *GBA*, все случаи болезни — спорадические. Проанализированы частоты встречаемости мутаций у пациентов с различными особенностями протекания заболевания и возрастом манифестации. Выявлены достоверные отличия в длине теломер клеток буккального эпителия у пациентов и в контроле, в то же время в клетках крови длина теломер не различалась.

52. СВЯЗЬ ГЕНА СОМТ С КЛИНИЧЕСКИМ ПРОЯВЛЕНИЕМ ШИЗОФРЕНИИ В ПОПУЛЯЦИИ ЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ

Кондратенко А.С., Голоенко И.М., Даниленко Н.Г., Шатарнова Т.М., Давыденко О.Г.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

E-mail: cytoplasmic@mail.ru

Шизофрения - это мультифакториальное заболевание, характеризующееся высокой гетерогенностью клинических проявлений. Неоднозначность генетических данных вероятно преодолима при формировании более однородных групп пациентов в проявлении у них симптоматики, когнитивных нарушений и иных признаков патологии. Цель исследования: анализ связи локуса rs4680 гена *COMT* с риском развития шизофрении и ее клиническим проявлением. Проведено генотипирование группы пациентов (142 чел.) и контроля (91 чел.) методами ПЦР_ПДРФ и TaqMan. Степень выраженности симптоматики и параметры когнитивного функционирования пациентов оценивались с применением шкалы PANSS и WTSC теста соответственно.

Получены следующие результаты: Прямой ассоциации локуса rs4680 гена *COMT* с риском развития шизофрении не обнаружено ($p > 0,05$). Выявлена связь rs4680 гена *COMT* с переменными WTSC (процент неперсеверативных ошибок ($p = 0,047$), количество предъявляемых в ходе теста карточек ($p = 0,044$), количество пройденных категорий ($p = 0,046$), количество попыток потраченных на прохождение первой категории ($p = 0,043$)), а также с интегральными показателями негативной и общепсихопатологической симптоматики ($p < 0,05$) среди пациентов мужского пола. Носительство G-аллеля выступает фактором риска.

Полученные данные указывают на связь гена *COMT* с когнитивным функционированием, а также с механизмами формирования негативного синдрома и общепсихопатологической симптоматики у пациентов мужского пола, тем самым обнаруживая различия в механизмах формирования патологии среди полов.

53. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ БЕЛКА PIWIL2 В ОБРАЗОВАНИИ ГЕРМИНОГЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧКА

Кондратьева С.А., Гайнетдинов И.В., Скворцова Ю.В., Ажикина Т.Л.

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

E-mail: sofia.a.kondr@gmail.com

Причинами развития герминогенных опухолей (ГО) считаются нарушения в дифференцировке, миграции и созревании первичных половых клеток. PIWI белки - активные участники транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов, принимают участие во множестве клеточных процессов, в частности, защите генома от активности транспозонов во время сперматогенеза. В герминальных клетках человека экспрессируется полноразмерный белок PIWIL2. Нами были охарактеризованы новые короткие изоформы белка PIWIL2, специфически экспрессирующиеся в различных опухолях человека и клеточных линиях. Мы показали, что в ГО яичка экспрессируется короткая изоформа PL2L60A, при этом ее экспрессия повышена в семиномах и существенно снижается в несеминомных ГО. Снижение уровня экспрессии PIWIL2 (нокдаун с использованием siRNA) в клеточной линии Tera1 приводит к снижению уровня экспрессии L1, метилирование промоторной области L1 при этом не меняется. Увеличение количества PIWIL2 в клетке (создана клеточная линия, оверэкспрессирующая PIWIL2) приводит к изменению экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода. Таким образом, роль короткой изоформы PIWIL2 при образовании герминогенных опухолей может быть связана как с регуляцией экспрессии активных ретроэлементов, так и с участием в эпителиально-мезенхимальном переходе, характерном для опухолей. Работа поддержана Программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и грантом РФФИ №16-34-01193_мол_а.

54. ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА

Конькова М.С., Ершова Е.С., Вейко Н.Н., Кальянов А.А., Долгих О.А., Малиновская Е.М., Каменева Л.С., Костюк С.В.

Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

E-mail: mkonkova@gmail.com

Результаты, получаемые при исследовании биологических эффектов малых доз ионизирующего излучения (ИИ) на стволовые клетки человека (МСК), весьма противоречивы в опубликованной литературе. Мы исследовали повреждающее воздействие малых доз ионизирующего излучения (3 сГр, 10 сГр и 50 сГр) на МСК, оценивая уровень окислительных модификаций ДНК клеток и образование двунитевых разрывов ДНК в МСК человека. В качестве объекта исследований использовали 3 культуры МСК жировой ткани, полученные из операционного материала при резекции молочной железы. Облучение МСК дозой 3 - 50 сГр приводит к увеличению синтеза активных форм кислорода (АФК). Уровень АФК при действии радиации регулируется активацией ферментов NADPH - оксидаз семейства NOX. Уровень экспрессии NOX4 увеличивается в 1,5 раза через 30 мин, и в 2 - 3 раза через 1,5 часа после облучения. Синтез АФК вызывает окисление и повреждение ДНК ядер стволовых клеток. Уровень окислительных модификаций ядер МСК максимален при облучении дозой 10 сГр – через 30 мин после воздействия уровень 8-oxodG в ядрах МСК возрастает в 8 раз. При действии ИИ дозой 10 сГр уровень двунитевых разрывов ДНК возрастает в 4 раза через 30 мин после облучения. В течение первого часа после облучения МСК дозой 10сГр повышается уровень белка BRCA2, участвующего в репарации разрывов ДНК. Таким образом, облучение МСК малыми дозами ИИ приводит к окислительному повреждению ДНК МСК и образованию быстрорепазируемых разрывов ДНК, что наиболее ярко проявляется при облучении ИИ дозой 10 сГр.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01099 А.

55. ДЛИНА ТЕЛОМЕР И НАРУШЕННАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ГЛЮКОЗЕ У ЖИТЕЛЕЙ СЕЛЬСКОЙ МЕСТНОСТИ УКРАИНЫ

Красненков Д.С.¹, Халангот Д.Н.², Авилов И.Д.¹, Коляда А.К.¹

¹Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарёва НАМН Украины, Киев, Украина; ²Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комисаренка, Киев, Украина

E-mail: krasnenkovd@gmail.com

Теломеры – специфические концевые участки эукариотических хромосом, которые представляют собой тандемные повторы (у млекопитающих, в том числе человека, они представлены гексануклеотидом – TTAGGG). Показано, что теломеры укорачиваются с возрастом вследствие «концевой недорепликации» отстающей цепи, а также оксидативного стресса. Половые, эмбриональные и раковые клетки экспрессируют фермент - теломеразу, который удлиняет теломеры и позволяет им делиться бесконечно долго. В большинстве же соматических клеток теломеразы или вовсе отсутствует или ее уровень недостаточен для поддержания длины теломер. Теломеры укорачиваются во всех тканях синхронно, из-за повышенной активности теломеразы в активно пролиферирующих клетках. Неоднократно было показано, что метаболические нарушения ассоциированы с повышенным оксидативным стрессом. Целью нашего исследования было определение относительной средней длины теломер (ОСДТ) в клетках периферической крови у пациентов с нарушенной толерантностью к глюкозе и в контрольной группе. Определение ОСДТ осуществлялось по модифицированному методу мультиплексной монохромной полимеразной цепной реакции в реальном времени. Для исследования были отобраны жители сельской местности из одного района, с впервые выявленной нарушенной толерантностью к глюкозе. Была найдена негативная корреляция между длиной теломер и глюкозотолерантностью после нагрузки ($p < 0.01$). Так же была найдена негативная корреляция между длиной теломер и глюкозотолерантностью натощак ($p < 0.001$).

56. ФОРМИРОВАНИЕ КЛАСТЕРНЫХ ДР ДНК В ФИБРОБЛАСТАХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ДЕЙСТВИИ УСКОРЕННЫХ ИОНОВ

Круглякова Е.А.^{1,2}, Борейко А.В.^{1,2}, Буланова Т.С.^{1,2}, Заднепрянец М.Г.^{1,2}, Йежкова Л.^{1,3}, Смирнова Е.В.¹

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия; ²Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия; ³Химико-технологический университет, Прага, Чехия

E-mail: kruglyakovaea@bk.ru

В работе исследованы особенности индукции и репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК в фибробластах человека при действии ускоренных ионов ^{11}B (ЛПЭ = 135 кэВ/мкм; $E = 8,28 \text{ МэВ/н}$) и ^{20}Ne (ЛПЭ = 130 кэВ/мкм; $E = 47,16$). В качестве белков-маркеров ДР ДНК были использованы γH2AX и 53BP1. На основе количественного анализа $\gamma\text{H2AX}/53\text{BP1}$ фокусов установлено, что ускоренные ионы ^{11}B и ^{20}Ne индуцируют труднорепазируемые кластерные ДР ДНК. Показано, что кинетика элиминации ДР ДНК при действии ускоренных ионов ^{20}Ne замедлена, по сравнению с ионами ^{11}B , что может свидетельствовать о формировании более сложных кластерных повреждений ДНК. Были изучены количественные закономерности индукции ДР ДНК при действии ускоренных ионов ^{11}B и ^{20}Ne при разных дозах облучения. Анализ полученных зависимостей выявил наличие линейного участка в области малых доз и отклонение от линейности при увеличении дозы облучения.

57. ХИМЕРНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ С АЛЬТЕРНАТИВНЫМ АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИМ МОДУЛЕМ

Кузнецова В.В., Кулемзин С.В., Горчаков А.А., Таранин А.В.

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

E-mail: kuznezova@mcb.nsc.ru

Перспективным инструментом противоопухолевой иммунотерапии являются Т-клетки, генетически модифицированные с целью экспрессии химерного антигенного рецептора (CAR). CAR представляет собой искусственную белковую молекулу, способную специфически узнавать поверхностные антигены опухолей и запускать цитотоксическую активность Т-лимфоцита. В качестве модуля, ответственного за распознавание опухолевых антигенов, в большинстве случаев применяют производные антител scFv, которые, однако, обладают рядом серьезных ограничений. Данное исследование направлено на разработку нового варианта антигенраспознающего региона CAR, основанного на 10-м домене III типа белка фибронектина 1 человека (Fn3).

В работе оценивалась функциональность CAR различного модульного состава, содержащих Fn3, специфичные к опухоль-ассоциированным белкам VEGFR2, CEA и IGF-1R. На основе Т-лимфомной линии Jurkat с использованием CAR-кодирующих лентивирусных векторов были получены стабильные линии клеток, поверхностно экспрессирующие данные химерные рецепторы. После 4-часовой инкубации с клетками-мишенями, на поверхности которых экспонирован соответствующий антиген, либо с нерелевантными клетками-мишенями в качестве контроля, все полученные линии CAR Т-клеток демонстрировали повышенный по сравнению с контролем уровень экспрессии активационного маркера CD69, что указывает на способность Fn3-CAR к избирательному связыванию с целевым антигеном, приводящему к активации Fn3-CAR Т-клеток. Так, Fn3 являются функциональными в качестве антигенраспознающих модулей CAR и в перспективе могут стать оптимальной заменой scFv.

58. РАСШИРЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПАНЕЛЕЙ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *PAH*

Кузнецова И.А., Гундорова П.В., Поляков А.В.

Медико-генетический научный центр, Москва, Россия

E-mail: Iradris@yandex.ru

Фенилкетонурия (ФКУ) – заболевание группы ферментопатий, вызванное нарушением экспрессии гена *PAH*, осуществляющего метаболизм фенилаланина. В настоящее время известно более 950 мутаций гена *PAH*, спектр и распространенность которых имеют межпопуляционные различия.

В настоящее время ДНК-диагностика ФКУ осуществляется методом поиска 19 частых мутаций гена *PAH*, суммарная аллельная частота которых составляет 77,7%. Расширение диагностической панели повторяющихся мутаций гена *PAH* позволит с наименьшими временными и материальными затратами провести ДНК-диагностику ФКУ. Разработанная в настоящей работе система детекции мутаций основана на методе мультиплексной лигазной реакции. В систему вошли 6 повторяющихся мутаций, которые выбраны в результате анализа данных секвенирования гена *PAH* у больных ФКУ: R111X, c.664_665delGA, I306V, S349P, A300S, c.47_48delCT. Для проведения работы составлена выборка больных ФКУ, которым не подтвержден диагноз по итогам обследования на наличие 19 частых мутаций. В выборку вошло 334 пробанда (668 хромосом), из которых у 260 обнаружена одна мутация, у 74 – не выявлено мутаций по результатам предыдущих обследований. Мутации выявлены на 67 хромосомах (10 %) со следующими частотами: R111X 1,5%, c.664_665delGA 3,9%, I306V 1,4%, S349P 0,9%, A300S 1,7%, c.47_48delCT 0,8%. Диагноз подтвержден у 57 пробандов (17,1%). Эффективность дополненной диагностической системы из 25 мутаций составила 81,7%, она позволяет выявить обе мутации гена *PAH* у 66,7% больных ФКУ.

59. ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИИИ ПОЛИМОРФНЫХ ALU-ИНСЕРЦИОННЫХ ЛОКУСОВ С ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНА COL13A1

Мазай А.К.¹, Эрдман В.В.²

¹Башкирский государственный университет, Уфа, Россия; ²Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

E-mail: mazai.sandra@gmail.com

Среди гипотез о причинах и механизмах старения особое внимание привлекает гипотеза о роли нестабильности генома. Одним из пусковых механизмов нестабильности генома является активация *Alu*-элементов под влиянием стрессоров. Вопрос: может ли *Alu*-инсерционный полиморфизм влиять на вариабельность продолжительности жизни человека. В данной работе была использована выборка из 1603 человек, в возрасте 20-109 лет, этнических татар. Выделение ДНК осуществлялось методом фенольно-хлороформной экстракции; количественный анализ экспрессии гена *Col13A1* проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием генов фосфоглицераткиназы (*PGK*) и бета-2-миоглобулина (*B2M*) в качестве референсных. Для оценки различий уровня экспрессии генов между выборками, дифференцированными по отсутствию или наличию *Alu*-вставки, использовали U-критерий Манна-Уитни (SPSS v.21.0.). Охарактеризовано возраст-зависимое снижение экспрессии гена *COL13A1* у лиц, гомозиготных по аллелю *COL13A1*I*: среди долгожителей с генотипом *COL13A1*I/I* показатель fold change составил 0,19 ($U_{M-Y}=0,007$). Среди лиц в возрасте 80-94 лет было обнаружено, что у носителей генотипа *COL13A1*I/I* уровень транскрипционной активности гена *COL13A1* ниже, чем у носителей генотипа *COL13A1*D/D* (fold change=0,15, $U_{M-Y}=0,07$). Во всех изученных возрастных группах аллель *COL13A1*I* ассоциирован с более низкой транскрипционной активностью, чем аллель *COL13A1*D* ($U_{M-Y}<0,05$). В целом, полученные результаты свидетельствуют о снижении уровня транскрипционной активности гена *COL13A1* как с увеличением возраста, так и с присутствием аллеля, несущего *Alu*-инсерцию в данном гене.

60. МАЛАЯ РНК MTS1338 И ЕЕ РОЛЬ В МЕТАБОЛИЗМЕ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Мазурова А.С.¹, Григоров А.С.², Салина Е.Г.³, Быченко О.С.¹, Ажикина Т.Л.¹

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия; ²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; ³Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, Россия

E-mail: mazarina@yandex.ru

M. tuberculosis входит в группу бактерий туберкулёзного комплекса (МТВС), способных вызывать туберкулез – широко распространенное инфекционное заболевание человека и некоторых животных. Туберкулёзные микобактерии способны персистировать в организме хозяина долгое время, переходя в латентные формы. В настоящий момент идет поиск генетических механизмов такого перехода. Существенную роль в регуляции экспрессии генов прокариот играет некодирующий транскриптом (нетранслируемые области мРНК, малые РНК и др.). Мы исследовали роль малой некодирующей РНК MTS1338 в метаболизме *M.tuberculosis*. MTS1338 высоко консервативна у патогенных микобактерий, что может указывать на ее участие в регуляции развития инфекции. Экспрессия MTS1338 повышается в стационарной фазе роста и находится под контролем двухкомпонентной сигнальной системы DosRS, отвечающей за активацию ряда генов при гипоксии. Чтобы выяснить, какие гены регулируются MTS1338, мы подавили её экспрессию в клетках *M.tuberculosis* с помощью антисмыслового транскрипта. Анализ транскриптома полученного штамма выявил группы генов, экспрессия которых статистически достоверно изменяется при подавлении MTS1338. Вызванные этим изменения в бактериальном транскриптом коррелируют с изменениями, происходящими при делеции гена *phoP*. PhoPR – это двухкомпонентная сигнальная система, регулирующая ряд генов, включая гены, участвующие в метаболизме клеточной стенки. Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того что, малая РНК MTS1338 может служить связующим звеном между регуляторными системами DosRS и PhoPR. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-04-01247.

61. СВЯЗЬ ЛОКУСА RS1625579 ГЕНА MIR137 С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ШИЗОФРЕНИИ У ЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ

Макаревич А.Е., Даниленко Н.Г., Кондратенко А.С., Давыденко О.Г.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

E-mail: bio.makarevich@gmail.com

Полиморфизм rs1625579 гена MIR137 включен в перечень локусов, строго ассоциированных с шизофренией. Продукт данного гена – микроРНК miR-137, участвует в инициации пролиферации нервных стволовых клеток, регуляции процессов дифференцировки нейронов, синаптогенеза, нейрогенеза, нейротрансмиссии и нейропластичности. Проведен анализ связи локуса rs1625579 гена MIR137 с риском развития шизофрении у жителей Беларуси. Исследуемая выборка (150 человек) представлена пациентами, страдающими шизофренией; контрольная (102 человека) – группой лиц, не имеющих официального психиатрического диагноза. Генотипирование образцов ДНК проводилось с использованием метода TaqMan. Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов, а также комбинации генотипов (ТТ и ТG+GГ) по исследуемому локусу не выявил статистически значимых различий между пациентами с шизофренией и контрольной выборкой здоровых людей ($p < 0,05$). Влияния гендерного фактора на связь локуса с заболеванием также не было обнаружено. Полученные частоты аллелей в контрольной выборке указывают на высокую долю носительства Т-аллеля среди жителей Беларуси (74%), что согласуется с данными по ряду европейских популяций. Поскольку шизофрения – мультифакторное и полигенное заболевание, детекция эффекта единичного полиморфизма может лимитироваться объемом выборок, влияющим на частоту комбинаций аллелей риска. Таким образом, полученные нами данные не позволяют однозначно судить об отсутствии связи локуса rs1625579 с данным заболеванием и предполагают расширение выборки.

62. АНТИДЕПРЕССАНТНЫЕ ЭФФЕКТЫ МЕЛАНКОРТИНОВ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У КРЫС

Марков Д.Д., Долотов О.В., Иноземцева Л.С., Курко О.Д., Гривенников И.А.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: molgenebio@gmail.com

Депрессия – это психическое расстройство этиология и патофизиология которого остаются малоизученными, а терапевтические препараты при этом являются низкоэффективными. Несмотря на это, очевидным является многофакторность заболевания, патофизиология которого может быть связана с изменением уровня нейротрансмиттеров, нейротрофинов, провоспалительных цитокинов, а также с аномальным функционированием ГГНС и нарушением нейрогенеза в гиппокампе. Меланокортины способны проявлять противовоспалительные эффекты, регулировать функционирование ГГНС, а также модулировать уровень нейротрансмиттеров и нейротрофинов, что делает их потенциальными кандидатами на роль терапевтических препаратов с антидепрессантными свойствами. Целью работы являлось изучение способности меланокортинов модулировать функционирование ГГНС, оказывать противовоспалительные эффекты, а также влиять на гедонистическое поведение крыс в условиях системного воспаления. В результате работы, нами обнаружено снижение уровня TNF- α и кортикостерона в сыворотке крови крыс в группе АКГГ4-10/ЛПС через 5,5 ч после введения ЛПС. Антагонист меланокортиновых рецепторов (MC3R/MC4R) SHU9119 обращал данный эффект. В ходе работы нами также обнаружено ослабление, при введении меланокортинов, снижения предпочтения раствора сахарозы, индуцированного введением ЛПС. Меланокортины не влияли на вызванное ЛПС снижение потребления корма и массы тела животных. Полученные данные указывают на способность меланокортинов модулировать влияние системного воспаления на активацию ГГНС и гедонистическое поведение животных. Это в свою очередь свидетельствует о перспективности дальнейшего исследования потенциала меланокортиновых пептидов с целью разработки на их основе фармакологических препаратов для терапии патологических состояний ЦНС. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (13-04-01690) и РНФ (16-15-10199).

63. РАЗЛИЧИЯ ТРАНСКРИПТОМНОГО ОТВЕТА НА ВВЕДЕНИЕ СЕМАКСА И PGP ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Медведева Е.В., Дмитриева В.Г., Лимборская С.А., Дергунова Л.В.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия.

E-mail: medvedevaekaterina@yandex.ru

Целью наших исследований является выяснение молекулярных механизмов действия синтетического пептида семакс, состоящего из фрагмента АКТГ(4-7) Met-Glu-His-Phe и С-концевого трипептида Pro-Gly-Pro (PGP), успешно используемого при лечении инсульта. В работе использовали модель фокальной ишемии мозга крыс. Для анализа изменения транскриптома клеток коры использовали микрочипы RatRef-12 Illumina. Крыс трех групп «ишемия», «ишемия+семакс» и «ишемия+PGP» декапитировали спустя 3 и 24ч после необратимой окклюзии левой средней мозговой артерии и проводили сравнение данных в 24ч относительно 3ч. Идентификация биологических процессов, ассоциированных (точный тест Фишера) с группами выявленных дифференциально экспрессирующихся генов проводилась с помощью веб-проекта Ingenuity iReport (Ingenuity® Systems). Биоинформатический анализ данных группы «ишемия» выявил значительное количество процессов, связанных с гибелью клеток коры мозга, тогда как для группы «ишемия+семакс» большая часть этих процессов не была выявлена. А также с высокой степенью значимости семакс оказал влияние на экспрессию генов, связанных с функционированием нейроглии и астроцитов. В отличие от семакса при введении трипептида PGP животным с ишемией мозга у 85% генов, ассоциированных с процессами передачи нервного импульса, экспрессия была снижена в течение первых суток ишемии. Возможно, PGP оказывает тормозящее воздействие на передачу нервного импульса между клетками. Сравнительный анализ показал различия в ответе транскриптома клеток мозга крыс на введение синтетических пептидов – семакс и PGP. Работа выполнена в рамках проектов Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 14-04-00487 и № 16-34-00760.

64. ГЕНЕТИЧЕСКИ-ОБУСЛОВЛЕННАЯ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ОРГАНИЗМА МЫШЕЙ НА МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНОМ УРОВНЕ

Медведева Ю.С., Вялкина М.В.

НИИ общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

E-mail: uliamed89@gmail.com

Проблема оценки адаптивных возможностей организма к действию облучения состоит в различиях радиочувствительности и организмов, и их органов и клеток. Поэтому следует применять интегральные методы оценки индивидуальной радиочувствительности. Цель: исследование генетически обусловленной радиочувствительности мышей на молекулярно-клеточном уровне. Были выбраны 3 линии мышей с различной генетически-детерминированной чувствительностью к радиации. Мышей линий C3H/SnY (C3H) и C57BL/6J (B6) считают более радиорезистентными, чем линию 101/HY (101), характеризующуюся геномной нестабильностью. Опытную группу облучали дозой 7,5 Гр. На основе базы MPD были выявлены различия в экспрессии генов между линиями C3H и B6. Методы: лазерная корреляционная спектроскопия (ЛКС), цитометрия, подсчет индекса сдвига лейкоцитарной крови (ИСЛК). Через 6 нед наблюдали общую нормализацию ЛК-спектров сыровоточного гомеостаза мышей, истощение пула Т-и В-лимфоцитов у мышей линий C3H, В-клеток у линии 101. У мышей B6 через наблюдали восстановление числа лимфоцитов, возможно, за счет повышенной экспрессии генов их пролиферации, характерной для B6. У мышей линий C3H и B6 зафиксировали достоверное повышение ИСЛК, у линии 101 –тенденцию к нему. Катаболический сдвиг в ЛК-спектрах, уменьшение содержания Т-клеток, повышение ИСЛК характеризуют наличие воспаления и дисрегуляцию иммунной системы. Эти процессы повышают риск развития отдаленных последствий облучения (Mukherjee D., 2014). Вывод: Разноуровневый анализ радиочувствительности дополняет данные о ее генетической обусловленности.

65. ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СОРТОВ СМОРОДИНЫ ЧЕРНОЙ (*RIBES NIGRUM*), ВЫРАЩИВАЕМЫХ В БЕЛАРУСИ

Межнина О.А., Урбанович О.Ю.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

E-mail: olgamezhnina@gmail.com

Смородина черная является одной из важнейших ягодных культур Республики Беларусь. Интенсификация ягодоводства требует использования новых сортов, отвечающих возрастающим современным требованиям, среди которых скороплодность и высокая урожайность, отзывчивость на агротехнику, устойчивость к вредителям и болезням, пригодность для механизированного возделывания и уборки урожая, высокие товарные и технологические качества ягод. В связи с этим все большее значение приобретает разработка эффективных и надежных методов оценки генетического разнообразия сортов с использованием молекулярных маркеров. Материалом для исследования послужили 54 сорта смородины черной, выращиваемые в Республике Беларусь. Данный материал был предоставлен РУП «Институт плодородства» (Самохваловичи). Сформированная коллекция сортов включает в себя как сорта белорусской селекции, так и сорта селекции России, Германии, Польши и других стран. Для изучения генетического разнообразия были использованы SSR-маркеры, специфичные к геному рода *Ribes* L. Максимальное число аллелей было выявлено с помощью маркеров g2-G12 и g1-M07. Количество обнаруженных аллелей составило 9 для каждого маркера. Маркер e1-001 выявил 8 аллелей. Среднее значение коэффициента полиморфизма (PIC) для исследованных SSR-маркеров составило 0,82, что указывает на высокий уровень полиморфизма выбранных микросателлитных локусов сортов смородины черной. Это позволяет рекомендовать данные SSR-маркеры для включения их в набор для ДНК-идентификации смородины черной. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта БРФФИ Б16М-039.

66. ДИФФЕРЕНЦИРОВКА В НЕЙРОНЫ ИПСК, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТА С МИКРОДУПЛИКАЦИЕЙ ГЕНА *CNTN6*

Мензоров А.Г.^{1,2}, Матвеева Н.М.¹, Гридина М.М.¹, Шнайдер Т.А.^{1,2}, Пристяжнюк И.Е.¹, Кашеварова А.А.³, Скрябин Н.А.³, Саженова Е.А.³, Лебедев И.Н.³, Серов О.Л.^{1,2}

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; ²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия; ³НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ РАН, Томск, Россия

e-mail: menzorov@bionet.nsc.ru

Ранее мы описали трех пациентов с умственной отсталостью (Kashevarova et al., 2014). Пациенты имели микроделецию или микродупликацию гена *CNTN6*. Есть данные, что у нокаутных по этому гену мышей нарушен дендритогенез. Мы решили получить пациент-специфические индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) и дифференцировать их в нейроны. Такие нейроны можно использовать как *in vitro* модель для изучения эффекта дупликации гена *CNTN6*. Мы получили семь линий ИПСК из фибробластов кожи пациента с микродупликацией субсегмента 3p26.3, затрагивающей ген *CNTN6*, используя стандартный протокол с четырьмя репрограммирующими факторами, OCT4, KLF4, SOX2 и C-MYC. Также были получены 12 линий ИПСК здорового донора. Присутствие микродупликации в ИПСК было подтверждено с помощью сравнительной геномной гибридизации. Мы показали, что полученные ИПСК плюрипотентны в тестах на формирование эмбрионидных телец и тератом в иммунодефицитных мышцах. Для дифференцировки в нейроны мы использовали протокол сверхэкспрессии транскрипционного фактора NGN2 (Zhang et al., 2013). Мы успешно получили нейроны из трех линий ИПСК с микродупликацией и трех линий здорового донора, что было подтверждено иммуноцитохимической окраской на специфические нейрональные маркеры: бета-тубулин 3 и нейрофиламент. В дальнейшем полученные пациент-специфические ИПСК будут использованы как модель для изучения влияния микродупликации гена *CNTN6* на функционирование нейронов. Это исследование было поддержано грантом РФФ 14-15-00772.

67. РОЛЬ ГЕНА AGBL2 В ПАТОГЕНЕЗЕ РАКА ЯИЧНИКОВ**Мингажева Э.Т.¹, Прокофьева Д.С.¹, Сакаева Д.Д.², Хуснутдинова Э.К.^{1,3}**¹Башкирский государственный университет, Уфа, Россия; ²Республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа, Россия; ³Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

E-mail: Elvira.F91@mail.ru

Рак яичников (РЯ) занимает одно из лидирующих мест среди онкологических заболеваний репродуктивной сферы у женщин. Генетическая предрасположенность является существенным фактором риска развития данной патологии. Известно, что 5-10% всех случаев РЯ обусловлены мутациями в генах BRCA1/2. К одним из потенциальных генов-кандидатов РЯ относят ген AGBL2. Белковый продукт данного гена является партнером опухолевого супрессора p53 и вовлечен в регуляцию процессов пролиферации опухолевых клеток, эпителиально-мезенхимального перехода и резистентности к химиотерапии.

Целью данной работы явилось изучение ассоциации полиморфного варианта с.G481A в гене AGBL2 с риском развития рака яичников. Материалом для исследования послужили образцы ДНК 284 больных РЯ и 223 здоровых индивидов. Генотипирование полиморфного локуса с.G481A осуществлялось методом ПЦР-ПДРФ.

В результате проведенного исследования было обнаружено, что генотип AA значительно чаще встречался в группе контроля – 8%, по сравнению с пациентами – 0,4%, а также частота аллеля А была выше в группе здоровых женщин (7,6% vs 0,8%). Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфного варианта с.G481A гена AGBL2 между больными РЯ и здоровыми женщинами показал ассоциацию данного локуса с пониженным риском развития РЯ (A vs G: OR=0.11, 95% CI:0.04-0.3, p=0,0005; AA + GA vs GG: OR=0.18, 95% CI:0.05-0.57, p=0,001; GA+GG vs AA: OR=1,07, 95% CI: 1,04-1,08, p=0006).

68. ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТИРОВАНИЯ 6-ФОСФОГЛЮКОНАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ЛИНИИ SCC61 К ЦИСПЛАТИНУ**Минигулова Л.Ф., Скрипова В.С., Мазитова А.М., Гапонова А.В., Киямова Р.Г., Серебрянский И.Г.**

Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, Казань, Россия

E-mail: minigulovalf@gmail.com

Одной из проблем в терапии рака является устойчивость опухолей к химиопрепаратам, в том числе к цисплатину. Поиск новых ингибиторов для преодоления такой устойчивости, является актуальной задачей. С помощью биоинформатического анализа нами были выявлены гены, которые могут участвовать в регуляции чувствительности к цисплатину, в том числе ген *PGD*, кодирующий фермент пентозофосфатного пути 6-фосфоглюконатдегидрогеназу. Известно, что его ингибирование приводит к снижению жизнеспособности ряда опухолевых клеточных линий (R.Lin et al., 2015). Целью работы было изучение влияния активности PGD на чувствительность опухолевых клеток к действию цисплатина. В работе использовалась клеточная линия карциномы рака головы и шеи SCC61 и ингибитор PGD Phycion. Мы определяли жизнеспособность клеток в присутствии комбинации исследуемых веществ в разных концентрациях с помощью набора Alamar Blue. Значения IC₅₀ для цисплатина и Phycion составили 21,2±4,6 мкМ и 76,4±17,3 мкМ, соответственно. При использовании их комбинации в соотношении 0,1:1 значение IC₅₀ для цисплатина снизилось до 1,3±0,4 мкМ. Подсчитанный в программе Calcsyn комбинационный индекс CI=0,25 свидетельствует о сильном синергетическом эффекте. Таким образом, было показано, что ингибирование PGD увеличивает чувствительность опухолевых клеток линии SCC61 к цисплатину. Более глубокое изучение механизмов взаимодействия данных препаратов может служить основой для разработки новых схем лечения опухолевых заболеваний.

69. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА СИНДРОМА ПЕНДРЕДА И АЛЛЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Миронович О.Л.¹, Близнец Е.А.¹, Маркова Т.Г.², Поляков А.В.¹

¹Медико-генетический научный центр, Москва, Россия; ²Российский научно-практический центр аудиологии и слухопротезирования ФМБА, Москва, Россия

E-mail: mironovich_333@mail.ru

Синдром Пендреда – аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся сочетанием сенсоневрального нарушения слуха с зобом щитовидной железы. Его распространенность оценивается как 7,5-10 случаев на 100000 новорожденных. Тугоухость при с.Пендреда сочетается с аномалиями развития структур внутреннего уха: широким водопроводом преддверия (EVA) и дисплазией типа Мондини. К развитию с.Пендреда, а также наследственной формы синдрома широкого водопровода преддверия приводят мутации в гене SLC26A4.

Среди российских пациентов с нарушением слуха распространенность и этиология данных заболеваний не изучены. В данной работе проведено исследование ДНК 20 пробандов с с.Пендреда и/или EVA и/или дисплазией Мондини. Образцы геномной ДНК пациентов проанализированы на наличие мутаций в генах коннексина 26 (GJB2) и пендрина (SLC26A4). В результате анализа у четверых пациентов обнаружены 6 патологических мутаций в гене SLC26A4. Одна мутация с.222G>T (p.Trp74Cys) выявлена впервые в данной работе. Мутации в гене SLC26A4 выявлены у пациентов с с.Пендреда и с тугоухостью с EVA в сочетании или без аномалии Мондини. У пациентов с изолированной дисплазией Мондини мутации не обнаружены. Показано отсутствие частых мутаций, в том числе известных в мире, или «горячих» экзонов в гене SLC26A4. У одного пациента с направляющим диагнозом с.Пендреда обнаружена мутация с.35delG в гене GJB2 в гомозиготном состоянии, что демонстрирует трудность клинической дифференциальной диагностики фенотипических вариантов синдрома Пендреда и несиндромальной сенсоневральной тугоухости, обусловленной дефектом коннексина 26.

70. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОМА ДОЛГОЖИТЕЛЕЙ

Мосейко В.В., Коляда А.К., Вайсерман А.М.

Институт геронтологии имени Д.Ф. Чеботарева НАМН Украины, Киев, Украина

E-mail: moseykovlad@gmail.com

Целью работы являлось изучение особенностей популяционного состава здоровой микрофлоры кишечника долгожителей. А так же определение пропорционального соотношения основных типов микроорганизмов с возрастом и влияние энтеротипа на продолжительность жизни.

Для исследования были отобраны образцы у пациентов, без явных патологий, из 3х возрастных групп: пожилой возраст(60-75 лет), старческий возраст (76-90) и долгожители (90+) по 50 в каждой. Образцы отбирались медицинским персоналом больницы при институте Геронтологии, из средней фракции утренней порции кала и помещались в буфер для стабилизации и транспортировки ДНК и РНК. Позже в условиях лаборатории проводили фенол-хлороформную экстракцию ДНК. Исследование проводилось методом ПЦР в режиме реального времени. Изучалось 3 основных типа микроорганизмов Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes. Исследование проводилось методами на основе ПЦР-реакции. Относительный количественный показатель рассчитывался на основе цикла преодоления флуоресцентного порога значимости. Как калибровочную кривую брали показатель общего числа Bacteria. В результате исследования нам удалось создать карту частот встречаемости различных энтеротипов, ассоциированных с долгожительством и характерных для украинской популяции.

В ходе изучения нами было обнаружено, что с возрастом количество Actinobacteria уменьшается, а Firmicutes и Bacteroidetes достоверно возрастает. В дальнейшем нами планируется добавить в исследование α и γ Proteobacteria, увеличить выборку.

71. КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ПРОФИЛЕЙ ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОМОТОРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ *E. COLI*

Орлов М.А., Рясик А.А., Зыкова Е.А., Сорокин А.А.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

E-mail: orlovmikhailanat@gmail.com

Увеличение числа *de novo* секвенированных геномов делает автоматизированную аннотацию обязательным этапом исследования организма. Традиционно значительное внимание уделяется поиску кодирующих участков генома и в этой области достигнут значительный прогресс. Попытки использования традиционных подходов для предсказания положения регуляторных последовательностей генома (в частности, промоторов) оказались менее успешными. В настоящее время наиболее перспективными считаются алгоритмы, которые наряду с текстовыми используют физические характеристики ДНК, напрямую определяющие ход процесса ДНК-белкового взаимодействия. Причем наиболее эффективно использование множества таких свойств одновременно.

В данной работе для полного набора экспериментально подтвержденных промоторов *E. coli* (штамм K12) из базы данных RegulonDB версии 8.5 получены профили физических свойств, представляющих различные типы: электростатический потенциал, вызванная суперспирализацией дестабилизация дуплекса (SIDD, Stress-Induced Duplex Destabilization) и данные модели динамических свойств открытых состояний ДНК.

Для каждого из наборов профилей, а также набора, полученного с помощью PCA (88%), получены устойчивые кластеры, для которых установлено наличие характеристических элементов профилей и обогащение функциональными классами соответствующих генов (по GeneOntology). Показано, что совместное использование физических свойств промоторных последовательностей при кластерном анализе позволяет более эффективно отличать их от последовательностей ДНК других типов. Работа поддержана грантом РФФИ №16-37-00303 мол_а.

72. БЕЛКИ *D. MELANOGASTER*, УЧАСТВУЮЩИЕ В ПРИВЛЕЧЕНИИ ФАКТОРА TRF2 НА ПРОМОТОРЫ ГЕНОВ

Осадчий И.С., Максименко О.Г., Георгиев П.Г.

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

E-mail: untie@mail.ru

Транскрипция является одним из важнейших этапов реализации генетической информации. В процессе транскрипции выделяют 3 стадии - инициацию, элонгацию и терминацию. Стадия инициации включает в себя рекрутирование базальных факторов транскрипции на коровую часть промотора, которое начинается со связывания TBP (TATA-binding protein) с TATA-боксом, и последующее позиционирование РНК-полимеразы II. У *D. melanogaster* были обнаружены паралоги TBP, это белки TRF1 (TBP-related factor 1) и TRF2. Для TRF2 показано участие в запуске транскрипции с промоторов, не содержащих TATA-бокс (многие гены домашнего хозяйства, в частности связанные с репликацией и клеточным циклом). В отличие от TBP и TRF1, TRF2 не обладает способностью напрямую связывать ДНК, поэтому его рекрутирование на промотор осуществляется за счёт взаимодействий с ДНК-связывающими белками. В целом, белки, необходимые для рекрутирования TRF2, практически не изучены, согласно литературным данным известно, что одним из таких белков является DREF. В нашей лаборатории с помощью дрожжевой двугибридной системы были обнаружены белки с кластерами цинковых пальцев, которые, возможно, могут напрямую участвовать в привлечении TRF2 на гены-мишени и входить в состав DREF/TRF2 комплекса.

73. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ЯКА *BOS GRUNNIENS* САЯНО-АЛТАЙСКОГО РЕГИОНА

Оюн Н.Ю.^{1,2}, Урум А.В.², Мартынова Е.У.¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия; ²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: nad_oyun@mail.ru

Домашний як *Bos grunniens* обитает в высокогорных районах на высоте 2000-5000 м над уровнем моря, где экстремально низкие температуры, скудные пищевые ресурсы и гипоксия являются лимитирующими факторами. Наибольшая численность домашнего яка отмечена в районах Цинхай-Тибетского нагорья, Западного Китая, в Монголии, в Саяно-Алтайском регионе России, а также в гималайских странах. Проект направлен на изучение популяционно-генетических особенностей, филогенетических связей и эволюционных процессов в локальных популяциях яка, обитающих на территории Саяно-Алтайского региона. На основе 15 полиморфных микросателлитных локусов впервые исследована генетическая структура популяций яка Тувы и Алтая. Для сравнения были включены две локальные популяции яка Монголии (северная и южная). Определена эффективная численность и коэффициент инбридинга, связь между дифференциацией популяций и географическим расстоянием. Создана модель демографической истории популяций и проведен ее детальный анализ. На основе полиморфизма гипервариабельного района D-петли митохондриальной ДНК изучены филогенетические связи и эволюционные корни яков Тувы, Алтая и Монголии. Для сравнения были привлечены нуклеотидные последовательности из GenBank. Ядром образования монгольской популяции послужили гаплотипы яков, одомашненных около 5 тысяч лет тому назад. В то же время, тувинская и алтайская популяции показывают кластеризацию как с домашними, так и с дикими формами яка Цинхай-Тибетского нагорья. Кроме этого, в тувинской популяции яка обнаружены новые гаплотипы в составе гаплогрупп домашних яков.

74. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОРОД КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА *BOS TAURUS* РОССИИ

Оюн Н.Ю.^{1,2}, Урум А.В.², Свищева Г.Р.¹, Столповский Ю.А.¹

¹Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия; ²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: nad_oyun@mail.ru

Одной из проблем российского животноводства является обеднение породного, а значит, и генетического разнообразия крупного рогатого скота. В настоящее время официально зарегистрировано 18 отечественных пород КРС. Сохранение генофондов местных, в том числе аборигенных пород обусловлено не только экономическими задачами. Главной целью является поддержание ресурсов генетического разнообразия *Bos taurus* как вида. На основе полиморфизма микросателлитных повторов проведено сравнительное изучение популяционной структуры четырех пород КРС: калмыцкая, алтайская, костромская и бурятская, которая представлена локальными популяциями в Китае и в Монголии. Микросателлитный анализ выполнен по 15 локусам. Амплификация локусов проводилась с использованием стандартных панелей с последующим фрагментным анализом полученных размеров аллелей. Популяционно-генетический анализ выполнен в программах POPGENE, GDA, STRUCTURE и в среде R. Результаты кластеризации показали наличие трех кластеров в структуре генофонда исследуемых пород. Следовательно, в формировании пород принимали участие три исходные прародительские популяции, одна из которых внесла наибольший вклад в генофонд бурятской породы, состоящей из двух удаленных географических популяций. Алтайская и калмыцкая породы представлены отдельными кластерами. Однако в данных породах прослеживается незначительная примесь кластера бурятской породы. В то же время костромская порода сочетает в себе все три кластера приблизительно в равных долях. Таким образом, в работе показано, что костромская порода КРС была создана с участием различных пород, в том числе алтайской, бурятской и калмыцкой.

75. БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ МИКРОФЛОРЫ ЗАГРЯЗНЕННЫХ РАДИОНУКЛИДАМИ ПОЧВ

Паренюк Е.^{1,2}, Шаванова Е.², Илленко В.², Самофалова Д.³, Гудков И.²

¹Институт радиоактивности окружающей среды Университета Фукусимы, Фукусима, Япония; ²Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, Украина; ³Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, Киев, Украина

E-mail: olena.parenjuk@gmail.com

Почвенный микробиом – сложная система, состоящая из широкого спектра субстрато-специфических групп бактерий, каждая из которых отвечает за использование конкретной группы органических или неорганических соединений. Радионуклидное загрязнение, сформировавшееся после аварий на АЭС Чернобыля и Фукусимы, привело к формированию в почве доз, которые, хоть и не имеют прямого влияния на выживаемость или морфологию отдельных представителей почвенных бактерий, но, из-за разницы в радиочувствительности разных видов микроорганизмов, могут существенно влиять на соотношение видов в сообществах и, соответственно, на перераспределение веществ в экосистеме. Образцы для изучения были отобраны на территории зоны отчуждения ЧАЭС с разной степенью загрязнения – в лесах возле отселённых посёлков Дитятки, Копачи, Новошепеличи, Чистогаловка, а также образцы из Рыжего леса. Для оценки видового разнообразия использовали секвенирование нового поколения. Биоинформатическую обработку проводили с помощью пакетов программ QIIME и Illumina BaseSpace 16s Metagenomics. Предварительные результаты показывают, что микробиомы с территории лесов отличаются между собой по количеству видов, в то время как видовой состав остается схожим. В то же время образцы из Рыжего леса существенно отличаются от отобранных на территории лесов, а также между собой как по количеству, так и по видовому составу. Полученные результаты дают возможность предположить, что радионуклидное загрязнение может быть одним из факторов, влияющих на структуру почвенного микробиома.

76. ИЗУЧЕНИЕ СИГМА38-ЗАВИСИМЫХ ПАУЗ ТРАНСКРИПЦИИ У БАКТЕРИИ ESCHERICHIA COLI

Петушков И.В.^{1,2}, Есюнина Д.М.¹, Кульбачинский А.В.^{1,2}

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; ²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: telomer1@rambler.ru

Одним из механизмов регуляции активности РНК-полимеразы (РНКП) у бактерий является использование в инициации транскрипции вариабельных сигма-субъединиц, которые узнают различные варианты промоторов. За транскрипцию большинства генов отвечает главная сигма-субъединица, остальные сигма-субъединицы называются альтернативными. Для главной сигма-субъединицы было показано, что она способна оставаться связанной с элонгационным комплексом и вызывать остановки синтеза РНК – транскрипционные паузы при взаимодействии с -10-подобным элементом, напоминающим последовательность промотора. У бактерии *Escherichia coli*, помимо главной сигма-субъединицы (сигма70-субъединицы) есть ещё 6 альтернативных сигма-субъединиц. Способны ли они вызывать транскрипционные паузы, не известно. Мы продемонстрировали, что альтернативная сигма38-субъединица способна вызывать транскрипционные паузы на синтетических и природных ДНК-матрицах в системах *in vitro*. С помощью измерения эффективности образования паузы и анализа связывания сигма-субъединиц методом задержки в геле, мы обнаружили, что сигма38 и сигма70 имеют сходную аффинность к элонгационному комплексу РНКП. Замены в -10-подобном элементе приводят к ослаблению связывания сигма38-субъединицы и уменьшению эффективности паузы. Мы обнаружили мутации в сигма38-субъединице, которые ослабляют и усиливают паузы. Нами получены косвенные данные о том, что сигма-38-зависимые паузы могут выполнять регуляторную роль *in vivo*. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 15-34-20928.

77. ВЛИЯНИЕ ЛЕТУЧИХ СОЕДИНЕНИЙ НА РАСТЕНИЯ, ИНДУКЦИЮ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА, УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ

**Плюта В.А.¹, Чуприянова Т.А.², Черникова А.С.², Куприянова Е.В.³, Хмель И.А.¹,
Попова А.А.¹, Липасова В.А.¹**

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; ²Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия; ³Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: plyutaba@gmail.com

Синтез летучих органических соединений (ЛОС) бактериями – важный, мало изученный аспект их жизнедеятельности. Известно, что ЛОС могут подавлять рост микроорганизмов и модулировать рост растений. Исследовано влияние газовых смесей летучих веществ, синтезируемых бактериями родов *Pseudomonas* и *Serratia*, и индивидуальных ЛОС (диметилдисульфид - ДМДС, кетоны, 1-ундецен) на рост и развитие растений *Arabidopsis thaliana*, ответ бактерий на окислительный стресс (ОС) и чувствительность бактерий к антибиотикам. Изучены закономерности ингибирующего действия ЛОС на *A. thaliana*. Показано, что их эффект варьировал в зависимости от условий культивирования. Для оценки степени окислительного стресса в работе были использованы специфические lux-биосенсоры - *E. coli* MG1655, несущие плазмиды с репортером lux-опероном и клонированными промоторами генов *katG*, *soxS*, *oxyS* (продукты этих генов участвуют в защите клеток от ОС). Степень экспрессии соответствующих промоторов определялась по интенсивности биолюминесценции. Показано, что исследуемые ЛОС не вызывают ОС. При предварительной обработке культур биосенсоров ЛОС подавляется индукция ОС, вызываемая перекисью водорода или паракватом. При изучении действия ЛОС на чувствительность клеток *E. coli* к антибиотикам с различными механизмами действия мы наблюдали повышение устойчивости клеток при совместном действии гентамицина с 2-нонаноном или с ДМДС. Напротив, при совместном действии кетонов и ципрофлоксацина выживаемость клеток снижалась; при обработке клеток ампициллином с кетонами или ДМДС устойчивость клеток к антибиотику изменялась мало.

78. ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ СЕНСОР ПОЛИ(АДФ-РИБОЗЫ)

Подвальная Н.М.^{1,2}, Серебровская Е.О.², Шрам С.И.¹, Лукьянов К.А.²

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; ²Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

E-mail: npodvalnaya@gmail.com

Поли(АДФ-рибоза) (ПАР) – биополимер, образующийся в эукариотических клетках в ответ на повреждение ДНК. Изменение уровня ПАР в клетке может служить маркером клеточного стресса, что важно для изучения механизмов возникновения патологических процессов. Целью нашей работы было создать флуоресцентный сенсор, позволяющий детектировать образование ПАР в живой клетке. В качестве сенсоров планировалось использовать пары химерных белков на основе флуоресцентных белков и природных ПАР-связывающих доменов. В качестве ПАР-связывающих структур мы выбрали ПАР-связывающий мотив (PBM) белка p53 и WWE-домен белка RNF146. В качестве флуоресцентных белков, способных к Ферстеровскому резонансному переносу энергии (FRET), использовались циановый белок mTurquoise (FRET-донор) и желтый белок mVenus (FRET-акцептор). Мы ожидали, что при образовании ПАР оба химерных белка будут связываться с ней, что приведёт к появлению FRET из-за близкого взаимного расположения белков. Плазмиды, кодирующие химерные белки, были созданы и котрансфецированы в эукариотические клетки культур остеосаркомы человека U2OS и крысиных кардиомиоцитов H9c2. Флуоресцентная микроскопия живых клеток показала эффективное взаимодействие с ПАР для белков, содержащих WWE домен RNF146 в качестве ПАР-связывающего домена. При воздействии стрессовых факторов (ультрафиолетового излучения или перекиси водорода) в обеих клеточных культурах флуоресцентный сигнал перераспределялся из цитоплазмы в ядро и возникал FRET-сигнал. Таким образом, нами был создан флуоресцентный сенсор, позволяющий наблюдать за образованием ПАР в живой клетке.

79. БМАА КАК РЕГУЛЯТОР АЗОТФИКСАЦИИ И КЛЕТОЧНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ЦИАНОБАКТЕРИИ NOSTOC SP. PSS 7120

Попова А.А.¹, Кокшарова О.А.^{1,2}

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; ²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: alexandra.a.popova@gmail.com

Цианобактерии способны синтезировать цианотоксины, представляющие собой молекулы различной природы. Одним из цианотоксинов является нейротоксичная небелковая аминокислота БМАА (бета-метиламино-L-аланин), накопление которой в организме человека способствует развитию нейродегенеративных заболеваний. Функциональное значение этих молекул в метаболизме самих цианобактерий изучено еще недостаточно. Обнаружено, что микромолярные концентрации добавленного к клеткам БМАА приводят к подавлению активности фермента нитрогеназы в уже сформированных гетероцистах diaзотрофной культуры Nostoc sp. PSS 7120 (N. 7120). С помощью методов флуоресцентной микроскопии нами впервые показано, что добавление экзогенного БМАА приводит к ингибированию формирования гетероцист в условиях голодания по азоту в культуре дикого типа цианобактерии N. 7120. Важно отметить, что в присутствии нитрата или аммония, препятствующих образованию гетероцист, добавление БМАА к клеткам цианобактерии N. 7120 приводит к образованию гетероцистоподобных клеток, не фиксирующих молекулярный азот. Таким образом, экзогенно добавленный БМАА в концентрациях 20-100 мкМ приводит к изменениям в регуляции процесса клеточной дифференцировки нитчатой diaзотрофной цианобактерии N. 7120. Для понимания регуляторного эффекта БМАА на клеточные процессы азотфиксирующих цианобактерий проводятся исследования экспрессии генов, контролирующих клеточную дифференцировку и активность нитрогеназы, а также новые эксперименты с привлечением методов ТЕМ и протеомики. Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-00656.

80. CARD14 РЕГУЛИРУЕТ ВОСПАЛЕНИЕ И ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК ПРИ ПСОРИАЗЕ

Преловская А.Н., Сорокина К.С., Чекалин Е.В., Золотаренко А.Д., Брускин С.А.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

E-mail: anna199292@mail.ru

Нарушения регуляции процессов воспаления могут привести к развитию иммунозависимых заболеваний. Транскрипционный фактор NF-κB известен как один из главных регуляторов воспаления, и недавние исследования показали, что активацию NF-κB в кератиноцитах опосредует белок CARD14, и выявили наличие в его гене мутаций, связанных с избыточной активностью NF-κB при псориазе. В данной работе мы изучали роль гена CARD14 в регуляции сигнальных каскадов, характерных для псориатического воспаления. Редактирование с помощью Crispr/Cas системы позволило создать клеточную модель с нокаутом гена CARD14, в которой была продемонстрирована более низкая экспрессия генов-маркеров воспаления IL8, TNFα и их пониженная активация при обработке цитокинами, характерными для псориаза. Кроме того, была проведена транзientная сверхэкспрессия гена CARD14 с псориаз-ассоциированной мутацией E138A. Оценка экспрессии генов маркеров псориатического воспаления IL6, IL8, TNFα, MMP9 показала их сверхэкспрессию в обработанных клетках. В клетках со сверхэкспрессией мутантной формы и с нокаутом гена CARD14 наблюдались изменения экспрессии транскрипционного фактора FRA1, который регулирует сигнальные каскады, приводящие к образованию псориатических повреждений на коже больных. Полученные данные позволяют предположить участие гена CARD14 в образовании псориатических повреждений на коже.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-01356 мол_А

81. РАЗРАБОТКА ХРОМОСОМОСПЕЦИФИЧЕСКИХ МАРКЁРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ХРОМОСОМ ОСЕТРОВЫХ С ПОМОЩЬЮ ДАННЫХ NGS

Прокопов Д.Ю.^{1,2}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия; ²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

E-mail: dprokopov@mcb.nsc.ru

Отряд осетрообразных – реликтовая группа рыб, представляющая значительный интерес с точки зрения эволюции геномов. Изучение геномов осетровых затруднено высокой фрагментированностью кариотипа, хромосомы сложно идентифицируются, молекулярные хромосомоспецифичные маркёры отсутствуют, до сих пор неизвестен способ определения пола. Стерлядь является ценным промысловым видом рыбы. Изучение биологии стерляди важно для аквакультуры и определения стратегии охраны данных видов. Мы секвенировали геномы самца и самки стерляди и идентифицировали ряд повторов, количество которых различалось у мужских и женских особей. Предполагалось, что локализация таких повторов с помощью FISH поможет идентифицировать половые хромосомы стерляди. Целью данной работы является выявление и идентификация хромосом, имеющих полоспецифичную картину распределения повторов и оценка возможности использования повторов для идентификации хромосом. При помощи метода FISH было локализовано 14 повторов. 8 из них локализуются на множестве мелких хромосом, наблюдается полиморфизм внутри популяции по характеру их распределения. 3 повтора локализуются в перичентромерной области хромосомы 14. При колокализации с зондами 18S и 28S рДНК было выяснено, что 3 повтора локализуются на хромосомах, несущих ЯОР. Было обнаружено 6 хромосомоспецифичных повторов, которые могут быть использованы для идентификации хромосом. Особенный интерес представляет картина локализации повтора Arut434, которая косвенно подтверждает явление частичной тетраплоидности стерляди. Данная работа поддержана грантом РФФИ № 14-14-00275.

82. ВЛИЯНИЕ РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО СТРЕССА НА ПРОФИЛЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТКИ АКТИВНОГО ХРОМАТИНА H3K4ME3

Решетников В.В.¹, **Лепешко А.А.**^{1,2}, **Ершов Н.И.**¹, **Студеникина А.А.**¹, **Бондарь Н.П.**¹

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; ²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

E-mail: vasilyreshetnikov@bionet.nsc.ru

Ранний постнатальный период является важным периодом для развития нервной системы и программирования последующего поведения. Стрессовые события в этот период могут привести к различным поведенческим расстройствам во взрослом возрасте, таким как депрессия, расстройства настроения. Молекулярные механизмы этих эффектов, вероятно, опосредованы эпигенетическими изменениями, в частности, модификацией гистонов. Цель данной работы – исследование эффектов раннего постнатального стресса на полногеномный профиль распределения метки активного хроматина H3K4me3 в префронтальной коре мышей. Мыши C57BL/6 были подвергнуты постнатальному стрессу (ежедневное отделение от матери в первые 2 недели жизни), у взрослых особей были взяты образцы префронтальной коры головного мозга. Затем с помощью иммунопреципитации хроматина с использованием антител к H3K4me3 и последующим секвенированием (ChIP-seq) был проведен анализ распределения пиков H3K4me3. Было выявлено 13 функционально-аннотированных генов, различающихся по распределению пиков в промоторах между контрольной и стрессированной группой. Среди них можно выделить ген *Zcchc9*, который снижает активность транскрипционных факторов NF-κB и SRE и, вероятно, играет роль в MAPK сигнальном пути. Другой интересный ген – *Noxin* его продукт накапливается в ядре в ответ на стресс, останавливая пролиферацию и противодействуя апоптозу. Таким образом, наши результаты демонстрируют изменение профиля распределения H3K4me3 в промоторах некоторых генов под влиянием стресса, что говорит о возможном участии этих генов в регуляции последствий раннего постнатального стресса. Работа поддержана проектом РФФИ 16-15-10131.

83. ПРОТЕОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ГЕМОЦИАНИНОВ ЭНДЕМИЧНЫХ БАЙКАЛЬСКИХ АМФИПОД *E. VERRUCOSUS*

Ржечицкий Я.А.¹, Бедулина Д.С.¹, Гурков А.Н.¹, Шатилина Ж.М.^{1,2}, Тимофеев М.А.¹

¹НИИ биологии Иркутского государственного университета, Иркутск, Россия; ²Байкальский исследовательский центр, Иркутск, Россия

E-mail: raptar969@gmail.com

Комплексное изучение немодельных организмов на протеомном и транскриптомном уровнях – это одна из основных задач современной экологической физиологии. Эндемичные амфиподы озера Байкал являются уникальным примером взрывного видообразования, и их изучение представляет интерес как с точки зрения эволюционной биологии, так и сохранения экосистемы Байкала, содержащего 20 % мировых запасов пресной воды.

Целью данной работы было изучение изоформ дыхательного пигмента гемоцианина у эндемичных амфипод *Eulimnogammarus verrucosus* (Gerstfeldt, 1858) на протеомном и транскриптомном уровнях. Разнообразие изоформ гемоцианина изучали методом двумерного электрофореза (с разделением белков по молекулярной массе и изоэлектрической точке), разнообразие генов гемоцианина изучали на основе ранее полученной сборки транскриптома *E. verrucosus*. Для более точного предсказания изоэлектрической точки обнаруженных генов получали модель трёхмерной структуры белка и далее использовали программу PROPKA 3.1.

Сопоставление результатов протеомного и транскриптомного анализа показало, что 4 из 7 идентифицированных изоформ гемоцианина (EveHc4-7), принадлежащих к специфичной для надотряда высших раков группе, являются мажорными у *E. verrucosus*. Впервые для высших раков была описана изоформа гемоцианина бета-типа (EveHc3).

84. ИДЕНТИФИКАЦИЯ МОНОГЕННОГО НАСЛЕДСТВЕННОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ DUMPS У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Романишко Е.Л.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

E-mail: LenaRamanishko@mail.ru

DUMPS (Deficiency of Uridine Monophosphate Synthase) – моногенное наследственное заболевание крупного рогатого скота. Причиной данного заболевания является мутация в гене *UMPS*, приводящая к дефициту фермента уридинмонофосфатсинтетазы. Этот фермент влияет на воспроизводительную функцию животных и выживаемость потомства. Однонуклеотидная замена цитозина на тимин (C→T) в гене *UMPS* фенотипически проявляется у гомозиготных особей, вызывая гибель эмбрионов после 40 дней эмбрионального развития. Гетерозиготные носители данного заболевания фенотипически нормальны, однако имеют только 50% от нормы активности фермента уридинмонофосфатсинтетазы, отвечающего за преобразование оротовой кислоты в уридинмонофосфат, который является важным компонентом пиримидиновых нуклеотидов, необходимых в больших количествах во время эмбрионального развития.

Распространение данной мутации происходит вследствие продажи племенных животных, эмбрионов и спермы скота голштинской породы. Носителями заболевания являются потомки быка Skokie Sensation Ned N 1308101 (1957г.). В работе исследован молекулярный механизм действия заболевания DUMPS вследствие мутации в гене *UMPS*. Оптимизированы условия проведения ПЦР и подобраны праймеры (Усенбеков Е.С. 2013) отличные от общепринятых, однако которые позволяют амплифицировать фрагмент ДНК большей длины (241 п.н.), что дает возможность при проведении ПДРФ анализа четко идентифицировать генотипы животных.

В результате проведения скрининга быков производителей в Республике Беларусь все протестированные быки были свободны от вредной генетической мутации, приводящей к заболеванию DUMPS.

85. ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР КАШТАНА КОНСКОГО

Рубан Ю.В., Шаванова К.Е.

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, Украина

E-mail: yuliya_ruban@mail.ua

Для исследования влияния на геном *A. hippocastanum* L. условий *in vitro* и проверки возможности их длительного использования без ущерба для генофонда использовался метод RAPD-ПЦР. Материалом служили 11 3-летних клеточных линий каллусных культур и исходное растение. Источником для выделения ДНК были клеточные линии, полученные при введении в культуру *in vitro* молодых листовых пластинок на модифицированные среды МС с добавлением витаминов и фитогормонов.

С помощью RAPD-праймеров в сумме получили 50 фрагментов с размерами продуктов амплификации от 205 до 2000 п.н., из которых шесть были полиморфными (12%).

Среди шести полиморфных маркеров три - высокополиморфных. В частности, в образце два при амплификации с праймером OPN 03 синтезируется фрагмент в 610 п.н. Во всех остальных случаях коэффициент полиморфизма был 22–40%. На основе различий между образцами каллуса рассчитали меру генетического сходства и генетические дистанции по Nei. Значение по Nei находятся в пределах 0-0,3747. Это является хорошим признаком наличия существенных изменений генетического материала в каллусных линиях каштана конского. Также отметим, что в разных линиях возникали одинаковые продукты амплификаций, которые отличали их от исходной линии. Это может объясняться тем, что культивирование *in vitro* вызывает определенные генетические перестройки, связанные с адаптацией к условиям. Поэтому при массовом размножении ценных генотипов должен проводиться тщательный контроль с помощью молекулярных маркеров.

86. НОВЫЕ РЕКОМБИНАНТНЫЕ БЕЛКИ *T. PALLIDUM* ДЛЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СИФИЛИСА

Рүнина А.В., Старовойтова А.С., Дерябин Д.Г.

Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии Минздрава РФ, Москва, Россия

E-mail: bel4788@gmail.com

Цель: Получение новых рекомбинантных белков *Treponema pallidum* с последующим исследованием их иммунореактивности с сыворотками от больных различными формами сифилиса и обоснованием диагностической значимости полученных рекомбинантных белков в качестве антигенов для совершенствования серологической диагностики сифилиса.

Результаты: На основании данных о структуре и аминокислотной последовательности белков *T. pallidum* определен список перспективных объектов для последующего клонирования, включающий Tr0453 (скрытый протеин наружной мембраны), Tr0965 (предполагаемый мембранный протеин) и Tr1038 (бактериоферритин). Изучение иммунореактивности данных рекомбинантных белков с сыворотками от больных с первичным (1), вторичным (2), ранним (3) и поздним (4) скрытым сифилисом показало высокий уровень антител к белку Tr0453 в 1 и 2 группах, в то время как уровень антител к белку Tr1038 был наиболее высоким в 3 и 4 группах наблюдения. Высокий уровень антител к рекомбинантному белку Tr0965 выявлен при всех формах сифилиса, будучи наиболее высоким в 1, 2 и 3 группах наблюдения.

Выводы: Рекомбинантные белки Tr0453, Tr1038 и Tr0965 *T. pallidum* являются новыми перспективными антигенами для серологической диагностики сифилиса, использование которых может стать основой для разработки дифференциальной диагностики разных форм данного заболевания.

87. ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА ATG8 ПШЕНИЦЫ

Рябовол В.В.¹, Вартапетян А.Б.², Чичкова Н.В.², Минибаева Ф.В.¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики КНЦ РАН, Казань, Россия; ²НИИ Физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

E-mail: vicry@yandex.ru

Белок ATG8 – это убиквитин-подобный белок, покрывающий мембраны аутофагосом – везикул, осуществляющих изолирование и удаление различных макромолекул и органелл в ходе катаболического процесса аутофагии. В гексаплоидной пшенице (*Triticum aestivum* L.) семейство ATG8 представлено девятью генами, которые подразделяются на три подсемейства. Каждое подсемейство включает три гомеологичных гена, локализованных на гомеологичных хромосомах 2AS, 2BS и 2DS. Гены ATG8 трех подсемейств дифференциально экспрессируются в ответ на различные стрессовые воздействия, такие как засуха, солевой, окислительный и раневой стрессы. С помощью транзientной экспрессии показано, что в стрессовых условиях (обработка антимицином А, метилвиологеном) изоформы белков ATG8 с, g и h могут включаться в состав аутофагосом. Все белки семейства ATG8 пшеницы имеют типичную убиквитиновую укладку, декорированную дополнительным N-концевым доменом. В структуре ATG8 обнаружены W и L сайты, с помощью которых ATG8 взаимодействует с различными лигандами в ходе формирования аутофагосом и при селективном удалении внутриклеточных компонентов. Скрининг с помощью различных серверов выявил множество коровых ATG белков, содержащих потенциальный AIM-мотив, среди которых ATG1, ATG11, TOR, ATG2, ATG9, ATG27, ATG6, ATG3, ATG4, ATG5 и ATG7. Таким образом, ATG8 определяет сайт формирования самой аутофагосомы и является ключевым белком в биогенезе аутофагосом.

88. НОВЫЕ КОМПОНЕНТЫ ИНСУЛЯТОРНОГО ИНТЕРАКТОМА D. MELANOGASTER

Сабилов М.С., Максименко О.Г., Георгиев П.Г.

Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

E-mail: mariosabirov@gmail.com

Инсулятор – регуляторный элемент генома, представляющий собой специфичную последовательность ДНК, с которой связан особый белковый комплекс. Инсуляторы участвуют в установлении и поддержании правильной архитектуры хроматиновых доменов посредством установления взаимодействий между компонентами белковых комплексов, которые в свою очередь связаны с последовательностями ДНК, расположенными удаленно друг от друга в геноме. Подобное свойство этих элементов определяет их важнейшие функции: блокирование или усиление взаимодействия между регуляторными элементами (промоторами и энхансерами), создание границ между активным и репрессивным хроматином.

Белок CP190 (Centrosomal Protein 190) описан в качестве универсального компонента инсуляторных комплексов у дрозофилы, и, по сути, он является адаптером между белками, непосредственно связанными с ДНК-последовательностями инсуляторов (например, dCTCF, Su(Hw), Pita, ZIRIC). Каждый из таких белков участвует в регуляции активности определенных групп генов. Однако полногеномный анализ белка CP190 показывает большое количество пиков этого белка в местах генома, где описанные ДНК-связывающие партнеры белка CP190 не представлены. Это наводит на мысль, что на настоящий момент установлены далеко не все транскрипционные факторы, взаимодействующие с CP190 и выполняющие архитектурную роль в геноме.

Мы выявили группу малоизученных белков – транскрипционных факторов, которые способны напрямую взаимодействовать с CP190 в ядре клетки и, возможно, являются компонентами инсуляторных комплексов.

Работа выполняется по гранту РНФ-14-24-0016.

89. ОРГАНИЗАЦИЯ ДОМЕНОВ АКТИВНОГО И РЕПРЕССИРОВАННОГО ХРОМАТИНА ЧЕТВЁРТОЙ ХРОМОСОМЫ *D. MELANOGASTER*

Сидоренко (Демидова) Д.С.¹, Сидоренко И.А.², Зыкова Т.Ю.¹, Жимулёв И.Ф.¹

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия; ²Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

E-mail: demidova.daria@mcb.nsc.ru

Классические политенные хромосомы (ПХ) *Drosophila melanogaster* являются удобным инструментом для изучения взаимосвязи генетической активности интерфазных хромосом с их структурной организацией. ПХ наглядно демонстрируют принцип организации интерфазных хромосом, поскольку многократная репликация ДНК без последующего расхождения дочерних хроматид приводит к тому, что хромомерный рисунок становится более ярко выраженным. На данный момент перед исследователями стоит задача преобразовать большой массив полногеномных данных в функциональные карты, характеризующие процессы регуляции транскрипции, репликации, сплайсинга и эпигенетических изменений. Для этого мы наложили генетическую карту и молекулярные характеристики хроматина на дисковый рисунок четвёртой хромосомы *D. melanogaster*. Четвёртая хромосома, самая маленькая в геноме *D. melanogaster*, является уникальным доменом хроматина, содержащим активные гены, и, в то же время, по своим свойствам во многом схожим с гетерохроматином. В данной работе мы применили новый комбинированный подход к картированию целых секций ПХ с использованием компьютерного моделирования, данных modENCODE, электронной микроскопии, FISH и световой микроскопии для определения геномных координат дисков и междисков четвёртой хромосомы. Это позволило нам с использованием полногеномных баз данных детально исследовать генетическую организацию, распределение белков хроматина и мобильных генетических элементов в морфологических структурах этого уникального домена хроматина *D. melanogaster*.

Работа поддержана грантами РФФИ 16-34-00331 и РНФ 14-14-00934.

90. РИБОСОМНЫЙ ДИСПЛЕЙ КАК ПЛАТФОРМА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ АНАЛОГОВ АНТИТЕЛ НА ОСНОВЕ ДЕСЯТОГО ДОМЕНА FN3

Сократян А.М., Баранов К.О., Кулемзин С.В., Волкова О.Ю., Наякшин А.М., Таранин А.В.

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

E-mail: howors@gmail.com

Использование моноклональных антител является перспективным направлением иммунотерапии онкологических, хронических и аутоиммунных заболеваний. Однако их применение ограничено (что обусловлено высокой стоимостью наработки, побочными эффектами и зачастую недостаточной эффективностью), в связи с чем возникла необходимость в поиске альтернативы. Многообещающими аналогами антител являются соединения на основе 10 домена фибронектина III типа (Fn3) человека, характеризующиеся высокими термодинамическими и фармакинетическими показателями в силу компактной вторичной структуры, а также отсутствия гликозилирования и дисульфидных мостиков. Данная работа направлена на создание и оптимизацию системы отбора Fn3-белков, специфичных к заданным мишеням. Одним из методов, позволяющих выделить аффинные белки, является рибосомный дисплей, суть которого заключается в отборе из комбинаторной библиотеки последовательностей против заданной мишени повторяющимися этапами паннинга и элюции. Диверсификацией двух петель в структуре 10 домена Fn3 была получена библиотека с разнообразием вариантов порядка 10^{13} . В качестве мишени использовали рекомбинантный белок CD47 с участком, специфичным к стрептавидину. Вместо традиционной процедуры рибосомного дисплея, мишень иммобилизовали на магнитных частицах, покрытых стрептавидином. После шести раундов отбора были выбраны 10 кандидатных клонов, которые в данный момент тестируются. Таким образом, было продемонстрировано, что оптимизированный метод рибосомного дисплея способен послужить платформой для создания мишень-нацеленных агентов на основе 10 домена Fn3.

91. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДАТИРОВКА ДИЗЬЮНКЦИЙ АРЕАЛОВ НЕМОРАЛЬНЫХ ПАЛЕАРКТИЧЕСКИХ ЛЕНТОЧНИКОВ *LIMENITIS* (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE)

Соловьев В.И.^{1,3}, Дубатолов В.В.², Костерин О.Э.^{1,3}

¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия; ²Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия; ³Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия.

E-mail: sol_vlad@bionet.nsc.ru

В последние 1,6 млн. лет Северная Евразия подвергалась циклическим похолоданиям и потеплениям, что приводило к смене растительных формаций и способствовало формированию дизъюнктивных ареалов. Ряд палеарктических ленточников (*Limenitis*) формируют дизъюнктивные ареалы, в частности, *L. helmanni* - алтайско-дальневосточный ареал, а *L. camilla* - амфипалеарктический (*L. camilla*). Дизъюнкции ареалов хорошо известны у насекомых неморального комплекса, однако оценка времени этих событий ранее варьировала на три порядка от миллионов до десятков тысяч лет. В работе была проведена оценка изменчивости гена гистона H1 и гена COI у неморальных чешуекрылых на примере амфиберингийской родовой дизъюнкции в роде *Limenitis* (*L. populi*, *L. arthemis*), проведена датировка времени амфипалеарктической (*L. camilla*) и алтайско-дальневосточной (*L. helmanni*) дизъюнкции. Филогенетические деревья построенные для рода *Limenitis* на основе генов COI и H1 полностью согласуются друг с другом. Время существования общего предка неарктических видов *Limenitis* и *Limenitis populi* составляет 5,6 – 8,0 млн. лет назад, что подтверждает миоценовые датировки этих амфиберингийских родовых дизъюнкций. Первичные структуры генов COI и H1 у изолятов из разных частей дизъюнктивных ареалов у *L. helmanni*, *L. camilla* отличаются незначительно. Консенсусные последовательности гена гистона H1 совпадают друг с другом в различных частях дизъюнктивного ареала у каждого из этих видов, что свидетельствует в пользу голоценовой датировки разрывов ареалов у *L. helmanni* и *L. camilla*.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-34-00845.

92. ПОИСК НОВЫХ БЕЛКОВЫХ ПАРТНЕРОВ CARD14, УЧАСТВУЮЩИХ В РЕГУЛЯЦИИ СИГНАЛЬНЫХ КАСКАДОВ ВОСПАЛЕНИЯ

Сорокина К.С.^{1,2}, Чекалин Е.В.², Преловская А.Н.², Золотаренко А.Д.², Брускин С.А.²

¹Российский государственный аграрный университет - Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия; ² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

E-mail: 777Gemera@mail.ru

Белок CARD14 относится к семейству мембран-ассоциированных гуанилаткиназ, содержащих каспаз-рекрутирующий домен, и наряду с другими членами семейства идентифицирован как важный регулятор активации транскрипционного фактора NFκB и сигнальных каскадов воспаления. Исследования показали взаимодействие CARD14 с белками MALT1 и BCL10, однако, в силу малой изученности сигнальных каскадов CARD14, актуальным вопросом является идентификация роли его других белковых партнеров в регуляции сигнальных каскадов воспаления. Поэтому целью данной работы стал поиск малоизученных партнеров данного белка и верификация их участия в сигнальных каскадах воспаления. Для выполнения цели были проанализированы базы белок-белковых взаимодействий STRING, BioGRID и IntAct. Были выбраны 5 наиболее перспективных белков для дальнейшего анализа – PPME1, MAP3K1, ZNF471, NECW2, TRIP13. В качестве положительного контроля использовался белок BCL10. Затем при помощи системы редактирования генома CRISPR/Cas9 на культуре клеток человека HEK293 были проведены эксперименты редактированию перечисленных генов с негомологичным восстановлением концов для ингибирования опосредованных ими сигнальных каскадов. Участие данных белков в регуляции сигнальных каскадов воспаления оценивали при помощи количественной ПЦР в реальном времени на гены-маркеры воспаления IL6, IL8 и TNFα. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-01356 мол_А

93. РОЛЬ ALU ЭЛЕМЕНТОВ В ГЕНАХ LAMA2 И ACE В РАЗВИТИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ДОЛГОЛЕТИИ

Тимашева Я.Р., Эрдман В.В., Каримов Д.Д., Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Мустафина О.Е.

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

E-mail: ianina_t@mail.ru

Alu-ретротраспозоны влияют на регуляцию экспрессии генов и способствуют развитию нестабильности генома, приводя к постепенному угасанию функций, дряхлению организма и развитию возраст-ассоциированных заболеваний. Цель исследования состояла в изучении роли Alu-элементов в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и долголетия. Нами проведен анализ ассоциаций Alu-полиморфизма генов ACE (Ya5NBC102) и LAMA2 (Ya5-MLS19) с эссенциальной гипертензией и долголетием в группе татар, проживающих в Республике Башкортостан (N=3123). Группа исследования состояла из 534 пациентов с эссенциальной гипертензией, 585 здоровых индивидуумов без признаков сердечно-сосудистых заболеваний и общепопуляционной выборки (N=2004) в возрасте от 18 до 109 лет. Частота генотипа LAMA2*I/D была повышена в группе мужчин в возрасте от 82 до 109 (OR=1.08, P<0.0001). Среди женщин в возрасте старше 76 лет было выявлено снижение частоты генотипа ACE*D/D (OR=0.95, P=0.024). Нами не было выявлено ассоциации этих локусов с гипертензией, однако анализ с учетом факторов риска продемонстрировал наличие предрасположенности к раннему дебюту заболевания у носителей аллеля LAMA2*I (до 44 лет, OR=1.69, P=0.016) и генотипа ACE*D/D (до 43 лет, OR=12.89, P=0.02). Протективными в отношении эссенциальной гипертензии у татар оказались генотипы LAMA2*D/D (OR=0.38, P=0.007) и ACE*I/I (OR=0.39, P=0.048). Результаты исследования свидетельствуют о значительной вариабельности частот генотипов Alu-полиморфизма генов ACE и LAMA2 в различных возрастных группах, что может влиять на раннее развитие сердечно-сосудистых заболеваний.

94. МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СТРЕССА

Топчу Ю.А., Абрамова З.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

E-mail: topchu_1993@mail.ru

Большинство противоопухолевых препаратов направлено на запуск в раковой клетке апоптоза. Активация апоптоза может сопровождаться усилением аутофагии. Аутофагия может, как ограничивать терапевтический эффект противоопухолевых препаратов, так и усиливать его. В случае немелкоклеточного рака легкого человека часто обнаруживаются мутации в гене *Ras*, а также мутации гена *TP53*. Цель данной работы – морфологическая характеристика программируемой клеточной гибели опухолевых клеток A549 и NCI-H322M в условиях метаболического стресса. Объектами исследования стали клеточные линии, различающиеся по статусу гена *TP53*: A549 - *TP53^{wt}*, NCI-H322M - *TP53^{mt}*. Клетки культивировались на протяжении 12 суток без замены питательной среды. Методом электронной микроскопии в клетках линии A549 были выявлены как морфологические признаки раннего апоптоза, так и признаки аутофагии. Для клеток NCI-H322M морфологические признаки запуска аутофагии практически отмечены не были. Однако, клетки данной линии, отвечают на метаболический стресс высокой апоптотической активностью. Общая выживаемость клеток линии A549 была выше. Методом Вестерн-блота было показано, что аутофагия в клетках A549 проявляет максимальную активность на 1-3 сутки культивирования (снижение экспрессии киназы mTOR). Таким образом, выживание клеточной линии A549 (*TP53^{wt}*) в условиях метаболического стресса, возможно, обусловлено запуском аутофагии. Отсутствие индукции аутофагии в клетках линии NCI-H322M (*TP53^{mt}*), можно объяснить нарушением транскрипционной функции p53 по отношению к гену *Ras*, который играет роль в регуляции аутофагии.

95. ВЛИЯНИЕ ПРОТЕИНКИНАЗЫ GSK3-B НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И НЕРВНУЮ СИСТЕМУ D. MELANOGASTER

Тростников М.В., Рощина Н.В., Пасюкова Е.Г.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: mikhail.trostnikov@gmail.com

Процессы, определяющие работу нервной системы, играют важную роль в контроле продолжительности жизни. Протеинкиназа GSK3-b, кодируемая геном *sgg*, является одним из ключевых белков, объединяющих различные сигнальные и метаболические пути, контролирующие нейрогенез и функциональный статус нервной системы. Так, *sgg* взаимодействует с генами, роль которых в контроле продолжительности жизни мы показали ранее. В связи с этим, было решено исследовать характер и молекулярные механизмы влияния *sgg* на продолжительность жизни. Мы показали, что увеличение и уменьшение экспрессии гена *sgg* влияет на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster*. Эффект зависит от того, количество какого транскрипта изменяется, и от ткани, в которой с помощью экспрессии дополнительных копий гена или РНК-и нокдауна индуцируется изменение. Удалось выяснить, что увеличение и уменьшение экспрессии основного варианта транскрипта *sgg* RB и белка RB во всех клетках нервной системы драматически снижает продолжительность жизни. Этот эффект сопровождается снижением активности синапсов, изменением цитоскелета и уменьшением числа митохондрий в нейронах. Однако, уменьшение экспрессии в дофамин- и глутаматергических нейронах приводит к увеличению продолжительности жизни. Мутации *sgg*, изменяющие экспрессию гена, также увеличивают продолжительность жизни на величину от 5 до 50%. Проводится анализ молекулярных и клеточных механизмов, лежащих в основе увеличения продолжительности жизни при изменении экспрессии *sgg*.

96. ЯДЕРНЫЙ РЕЦЕПТОР NR4A3 УСИЛИВАЕТ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ДОКСОРУБИЦИНУ И ЦИСПАЛТИНУ

Федорова О.А., Шувалов О.Ю., Петухов А.В., Дакс А.А., Васильева Е.А., Барлев Н.А.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: fedorovaolgand@gmail.com

Семейство ядерных рецепторов, являющихся ДНК-связывающими транскрипционными факторами, относятся к распространенным регуляторам экспрессии генов у высших эукариот. Таким образом, влияние ядерных рецепторов на патогенез различных заболеваний, включая злокачественных новообразований, активно изучается. Известно, что ядерный рецептор NR4A1 способствует повышению потенциала метастазирования при раке молочной железы, а также подавляет экспрессию проапоптотического гена *Bax* при воздействии ДНК-повреждающего агента доксорубина и таким образом опосредует резистентность раковых клеток. Целью данной работы было изучить влияние экспрессии ядерного рецептора NR4A3 на резистентность к ДНК-повреждающим агентам: доксорубину и цисплатину. Для этого были использованы клеточные линии рака молочной железы MDA-MB-231 и MDA-MB-468 с разным статусом экспрессии гена NR4A3. С помощью колориметрического МТТ-теста оценивали количество жизнеспособных клеток после обработки клеточных линий MDA-MB-231 и MDA-MB-468 ДНК-повреждающими агентами доксорубина и цисплатина в различных концентрациях. Кроме того, для детекции клеток, подвергшихся апоптозу, использовали флуоресцентный метод анализа апоптоза по связыванию аннексина V. Также мы показали, что NR4A3 усиливает экспрессию проапоптотических генов таких, как *Puma* и *Bax*. Однако после обработки ДНК-повреждающими агентами NR4A3 наоборот подавляет экспрессию *Puma* и *Bax*, что приводит к снижению уровня апоптоза.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ: 14-15-00816 и РФФИ (14-15-00816 мол_а_дк и 16-34-00869 мол_а)

97. РОЛЬ БЕЛКА Piwi В РЕГУЛЯЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ В ЯДРЫШКЕ

Фефелова Е.А.^{1,2}, Кленов М.С.¹

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; ²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

E-mail: il.tardigrado@gmail.ru

Белки семейства Piwi образуют комплексы с короткими piРНК (Piwi-interacting RNA), с помощью которых подавляют транскрипцию или иницируют деградацию транскриптов мобильных генетических элементов. Ранее в нашей лаборатории было показано, что в клетках яичников и эмбрионов *Drosophila melanogaster* белок Piwi локализуется преимущественно в ядрышках, и его присутствие необходимо для подавления ядрышковых ретротранспозонов R1 и R2, которые интегрируются в строго определенные районы 28S рибосомальной ДНК. Методом run-on транскрипции нами было показано, что регуляция активности ядрышковых транспозонов с помощью Piwi происходит на транскрипционном уровне. Мы обнаружили, что присутствует как смысловая, так и антисмысловая транскрипция ретротранспозона R2 и что Piwi оказывает существенное влияние на его смысловую транскрипцию. Предполагается, что Piwi регулирует не только на ядрышковые транспозоны, но и оказывает воздействие на транскрипцию всего рибосомального кластера. Было изучено генетическое взаимодействие Piwi с транскрипционным фактором Udd, который входит в белковый комплекс (Selectively-I-like complex), участвующий в инициации транскрипции РНК-полимеразы I в ядрышке. Мы обнаружили, что при нокдауне Udd ядрышковая локализация Piwi сохранялась, тогда как при мутации Piwi наблюдалось значительное снижение количества Udd в ядрышках герминальных клеток.

98. СИНТЕТИЧЕСКИЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПЕПТИДЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ НЕЙРОТРОФИНОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В МОЗГЕ КРЫС С 6-ГИДРОКСИДОФАМИН ИНДУЦИРОВАННЫМ ПАРКИНСОНИЗМОМ

Филатова Е.В.¹, Шадрина М.И.¹, Коломин Т.А.¹, Ставровская А.В.², Иллариошкин С.Н.², Мясоедов Н.Ф.¹, Сломинский П.А.¹

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия; ²Научный центр неврологии, Москва, Россия

E-mail: filatovaev@img.ras.ru

Известно, что при болезни Паркинсона (БП) клинические признаки проявляются при гибели приблизительно 60% дофаминергических нейронов компактной части чёрной субстанции, что свидетельствует об активно протекающих в мозге компенсаторных процессах. Важную роль в формировании компенсаторных возможностей мозга могут играть регуляторные пептиды. В связи с этим, нами впервые было проведено изучение механизмов действия и возможных нейропротекторных свойств регуляторных пептидов (DNSP-5, Семакса и нового гибридного пептида SD, созданного на основе DNSP-5 и Семакса) с использованием токсической модели БП. В ходе работы было проведено курсовое введение нейропептидов крысам с 6-ГДА-индуцированным паркинсонизмом. В контрольную группу вошли животные с паркинсонизмом, которым вводили воду. В результате впервые были проанализированы изменения транскрипции генов нейротрофинов (*Artn*, *Bdnf*, *Gdnf*, *Ngf*) и их рецепторов (*Gfra1*, *Gfra2*, *Gfra3*, *Gfra4*, *Gfral*, *Ngfr*, *Ntrk1*, *Ntrk2*) в чёрной субстанции, стриатуме, лобной коре, обонятельной луковице, гиппокампе и мозжечке мозга крыс под влиянием пептидов DNSP-5, Семакса и SD. При этом были выявлены значимые изменения экспрессии разных генов в изученных тканях мозга как на стороне введения токсина, так и на интактной стороне. Таким образом, можно предположить, что пептиды (DNSP-5, Семакс и SD) влияют на работу эндогенной системы нейротрофинов и могут формировать компенсаторные возможности мозга. Работа поддержана грантом Министерства образования и науки РФ (ГК № 14.604.21.0115, идентификатор RFMEFI60414X0115).

99. ВЛИЯНИЕ МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЫ SET7/9 НА ЭКСПРЕССИЮ ЯДЕРНОГО РЕЦЕПТОРА NUR77

Харченко В.Д., Дакс А.А., Барлев Н.А., Федорова О.А.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: vlada_12@mail.ru

Nur77 (NR4A1) принадлежит к семейству сиротских ядерных рецепторов NR4A, которые играют протоонкогенную роль в клетках млекопитающих. Данный белок участвует в таких жизненно важных клеточных процессах как репарация ДНК, пролиферация и ангиогенез. Следовательно, выявление механизмов регуляции экспрессии Nur77 является важным аспектом в изучении жизнедеятельности клетки. Данные анализа экспрессии генов клеточной линии остеосаркомы человека U2-OS показали влияние на экспрессию белка Nur77 лизин-специфической метилтрансферазы Set7/9, которая является эпигенетическим регулятором транскрипции генов. Целью нашей работы было определить влияние метилтрансферазы Set7/9 на экспрессию белка и на уровень мРНК Nur77 в нормальных условиях и повреждения ДНК. Для этого нами были использованы стабильные клеточные линии остеосаркомы человека U2-OS с индуцибельным нокдауном гена SetD7, трансфицированные векторами pSuperior-Tet-On и pSuperior-Tet-On-shRNA-Set7/9, соответственно. Tet-On систему активировали добавлением доксициклина на 72 часа. Повреждение ДНК осуществляли путем обработки клеток доксорубицином в течение 9,16 и 24 часов. Анализ экспрессии генов Nur77 проводили количественным методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Уровень экспрессии белка определяли методом иммуноблоттинга с использованием специфических антител. В результате исследования было показано, что уровень экспрессии Nur77 повышается в клетках с индуцибельным нокдауном гена SetD7 до и после обработки доксорубицином. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №14-50-00068 и РФФИ 16-34-00869 мол_а 16-34-60228 мол_а_дк.

100. СОЗДАНИЕ СЕНСОРНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ ДЛЯ ПОИСКА И ТЕСТИРОВАНИЯ КОМПОНЕНТОВ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ

Черникова Д.С.^{1,2}, Горчаков А.А.^{1,2}, Кулемзин С.В.², Баранов К.О.², Волкова О.Ю.², Таранин А.В.^{1,2}

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия; ²Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

E-mail: daria_chernikova@mail.ru

В настоящее время одним из самых перспективных направлений в разработке вакцины против ВИЧ-инфекции является создание иммуногена, способного индуцировать аффинное созревание широко нейтрализующих антител. Для поиска таких иммуногенов и оценки эффективности активации ими В-клеток, несущих на своей поверхности незрелую форму широко нейтрализующего антитела, необходимо создание тест-системы, максимально приближенной к человеку. Такой клеточной моделью может служить линия-сенсор с поверхностной экспрессией зародышевой формы широко нейтрализующего антитела в виде В-клеточных рецепторов. В данной работе в качестве такого тестового антитела использовалась зародышевая форма широко нейтрализующего антитела VRC01, нейтрализующая способность которого достигает 88-93% от числа известных вирусных изолятов.

В ходе данной работы была получена лентивирусная конструкция, кодирующая сенсор на основе мембранной формы зародышевой версии широко нейтрализующего антитела VRC01. Для наработки вирусных частиц была проведена котрансфекция полученной лентивирусной конструкцией с паковочными плазмидами клеточной линии HEK293T. Затем данные вирусные частицы использовались для трансдукции целевой клеточной линии В-клеточной лимфомы человека DG-75. Используя метод Ca-flux, было проведено функциональное тестирование полученной сенсорной линии. В настоящее время полученная сенсорная линия используется для тестирования невирусных иммуногенов, нацеленных на индукцию в организме аффинного созревания широко нейтрализующего антитела VRC01.

101. БЕЛКИ ПРОТЕАЛИЗИНОВОГО ОПЕРОНА

Чухонцева К.Н., Сафина Д.Р., Демидюк И.В.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

E-mail: ksysha57@bk.ru

Протеализин (Pln) – металлопротеаза *Serratia proteamaculans* – прототип группы протеолитических ферментов, представители которой широко распространены у эу- и архебактерий, а также встречаются у грибов. Несмотря на то, что биологическая роль ППП изучена мало, имеющиеся данные указывают на важную роль этих ферментов во взаимодействии бактерий с высшими организмами и участие этих белков в патогенезе. Таким образом, исследование функционирования ферментов группы важно для выяснения новых механизмов патогенеза бактерий.

Нами был проведен сравнительный анализ геномов микроорганизмов, продуцирующих ППП, и установлено, что за геном ППП во всех случаях расположен ген небольшого консервативного гипотетического белка, обозначенного нами как белок, ассоциированный с протеализином (Pass). Детальный анализ областей, в которых локализованы гены ППП и Pass, показал, что они организованы в оперон. Таким образом, ППП и белки Pass, по-видимому, выполняют общую функцию.

Для выяснения структуры и функций белков, ассоциированных с ППП, нами был получен рекомбинантный продуцент белка Pass из *S. proteamaculans* (Sp-Pass). Предварительные исследования, проведенные с использованием рекомбинантного белка, показали, что Sp-Pass является ингибитором протеализина.

Таким образом, нами впервые выявлена оперонная организация генов ППП и Pass, а также получены данные о функции белков Pass.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01048.

102. УБИКВИТИН-ЛИГАЗА MDM2 ВЛИЯЕТ НА ФЕРМЕНТЫ ГЛИКОЛИЗА

Шакирова А.И., Шувалов О.Ю., Петухов А.В., Фёдорова О.А., Дакс А.А., Васильева Е.А., Барлев Н.А.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: Shaigul93@mail.ru

Убиквитин-лигаза MDM2 является основным негативным регулятором онкосупрессора p53. Помимо этого, она также участвует в различных клеточных процессах и в настоящее время рассматривается в качестве перспективной мишени онкофармакологии. При этом в зависимости от клеточного контекста Mdm2 могут быть присущи как онкогенные, так и онкосупрессорные свойства. Для успешного применения ингибиторов Mdm2 важно как можно глубже понимать структурно-функциональную роль Mdm2 в раковых клетках различного генезиса. Ранее сотрудниками нашей лаборатории были получены данные масс-спектрометрической идентификации интерактантов MDM2. Среди данных интерактантов были идентифицирован ряд ферментов гликолиза. Хорошо известно, что гликолиз интенсифицирован в подавляющем большинстве раковых опухолей и что гиперэкспрессии его ферментов ассоциирована с устойчивостью злокачественных новообразований к химиотерапии, а также с неблагоприятным прогнозом выживаемости для пациентов. Поэтому задачами данного исследования были: 1. Верификация белок-белковых взаимодействий Mdm2 с рядом ферментов гликолиза, 2. Изучение влияния молекулярных последствий взаимодействия Mdm2 с этими ферментами.

В совокупности полученные нами данные свидетельствуют о влиянии MDM2 на гликолиз, что, хотя бы отчасти может быть связано с изучаемыми интерактантами.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №14-50-00068

103. ТРАНСФОРМАЦИЯ *NICOTIANA TABACUM* КОНСТРУКЦИЕЙ, НЕСУЩЕЙ ГЕН *NDB2* ИЗ *ARABIDOPSIS THALIANA*

Шишлова-Соколовская А.М.¹, Савчин Д.В.¹, Урбанович О.Ю.¹, Федосеева И.В.², Боровский Г.Б.²

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь; ²Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

E-mail: s_anastasia78@mail.ru; borovskii@sifibr.irk.ru

С целью изучения роли гена *ndb2*, кодирующего «внешнюю» нефосфорилирующую НАДФ-Н дегидрогеназу, в ответ на стресс, были созданы векторные конструкции с данным геном в прямой и обратной ориентации. Конструкция *pBI121_antiNDB2* содержит ген *ndb2* из *Arabidopsis thaliana* в антисмысловой ориентации под контролем 35S-промотора и *nos*-терминатора и селективный ген *nptII*. Для переноса конструкции в растения использовался агробактериальный штамм *EHA105*. Введение *pBI121_antiNDB2* в агробактериальный штамм *EHA105* осуществлялось с помощью трехродительского скрещивания. Селективный отбор колоний проводился на канамицине (100 мг/л), рифампицине (50 мг/л). Наличие вставки гена *ndb2* в обратной ориентации в Т-ДНК полученных трансформантов подтверждено ПЦР анализом. В качестве объекта для изучения эффективной работы конструкции использовалась линия табака *Nicotiana tabacum* cv. *Petit Havana SR1*. Введение гена *ndb2* осуществлялось посредством агробактериальной трансформации листовых дисков. Отбор регенерантов проводился на среде, содержащей канамицин 50 мг/л. В результате агробактериальной трансформации 334 эксплантов частота каллусогенеза составила 92,5%, частота регенерации устойчивых к канамицину трансформантов – 61,9%. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов БРФФИ Б16Р-050 и РФФИ №16-54-00070.

104. ОТЛИЧИЯ ЛОКАЛИЗАЦИИ p53 ДИКОГО ТИПА И p53 R175H В КЛЕТКАХ ЛИНИИ MDA-MB-231 ПОСЛЕ ТЕПЛОВОГО ШОКА

Шкляева М.А., Петухов А.В., Дакс А.А., Барлев Н.А.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: ritulkas@yandex.ru

Онкосупрессор p53 дикого типа (p53wt) активируется в ответ на разные формы стресса, включая тепловой шок. Мутации в ДНК-связывающем домене белка (в частности R175H) превращают его в онкоген. После стрессового воздействия часть p53wt экспортируется из ядра в цитоплазму на деградацию. Однако мутантные формы p53 в опухолях стабильны и ведут к хеморезистентности. Управление деградацией мутантных форм p53 малыми молекулами является одним из перспективных направлений таргетной противораковой терапии.

В связи с этим, мы исследовали динамику внутриклеточной локализации p53 R175H (p53mut) и p53wt на разных временных точках после теплового шока.

Эксперименты проводили на линии MDA-MB-231, трансдуцированной лентивирусными векторами, экспрессирующими p53mut и p53wt, сшитыми с зелёным флуоресцентным белком. Тепловой шок длился 45 минут при 42°C. Детектировали сигнал методом флуоресцентной микроскопии.

Мы показали, что при фиксации клеток сразу после обработки тепловым шоком p53wt локализуется в ядре, а через 4 часа обнаруживается и в ядре, и в цитоплазме. При этом p53mut при моментальной фиксации обнаруживается в цитоплазме, а через 4 часа – преимущественно в ядре.

Таким образом, мы впервые показали, что поведение p53mut в ответ на тепловой шок противоположно p53wt. Ранний выход p53mut из ядра возможен из-за взаимодействия с убиквитинлигазой Mdm2, в отличие от связанного с ДНК p53wt. Импорт p53mut в ядро через 4 часа может быть опосредован Hsp70, который взаимодействует с p53mut, но не с p53wt.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант №14-50-00068).

Алфавитный указатель

- D'Souza J., 26
- Kaplinski L., 12
- Kurg A., 12
- Peters M., 12
- Salumets A., 12
- Sauk M., 12
- Ustav E.L., 12
- Žilina O., 12
- Абайлдаев А.О., 15
- Абакумова Т.О., 12
- Абдурахмонов И.Ю., 17, 34
- Абрамова З.И., 58
- Авилов И.Д., 13, 39
- Агаб А.В., 23
- Агапов А.А., 13
- Адашев В.Е., 14
- Адян Т.А., 14
- Ажикина Т.Л., 38, 41
- Айтхожина Н.А., 15
- Акберова Н.И., 26
- Алексеев И.В., 27
- Аниканов Н.А., 5
- Антонов С.А., 15
- Артюхова В.Г., 31
- Атопкин Д.М., 10
- Аширбеков Е.Е., 15
- Бабенко В.В., 5
- Баранов К.О., 56, 61
- Барлев Н.А., 10, 23, 27, 36, 59, 61, 62, 63
- Бахчеван Е.Л., 16, 20
- Бедулина Д.С., 53
- Беккер Е.И., 16
- Бельская В.В., 17, 37
- Беляева Л.М., 24
- Близнец Е.А., 46
- Бобохужаев Ш.У., 17
- Бобровский П.А., 5, 18
- Бозин Т.Н., 18
- Болдинова Е.О., 19
- Бондаренко К.А., 19, 33
- Бондарь Н.П., 52
- Боравлёва Е.Ю., 20
- Борейко А.В., 31, 36, 39
- Борисова О.В., 20
- Боровский Г.Б., 63
- Борщевский В., 18
- Бочаров Э.В., 18
- Бочарова Е.С., 21
- Бошкова Е.А., 21
- Брускин С.А., 51, 57
- Буланенкова С.С., 6
- Буланова Т.С., 31, 39
- Булах М.В., 22
- Быченко О.С., 41
- Вайсерман А.М., 37, 46
- Валуиных О.Е., 22
- Вартапетян А.Б., 55
- Васильев С.А., 23
- Васильева Е.А., 10, 23, 27, 59, 62
- Вдовин А.С., 30
- Вейко Н.Н., 38
- Велегжанинов И.О., 30
- Вергун А.А., 7
- Волков П.В., 24
- Волкова О.Ю., 56, 61
- Воловик Н.О., 24
- Вялкина М.В., 43
- Гавриш К.В., 25
- Гайнетдинов И.В., 38
- Галимов Я.Р., 16
- Гамбарян А.С., 20
- Гапонова А.В., 45
- Георгиев П.Г., 47, 55
- Глущенко О.Е., 5
- Годнеева Б.К., 25
- Голиченко Д.О., 13
- Голоенко И.М., 37
- Гончарова Р.И., 9
- Гордейчук И.В., 20
- Горчаков А.А., 40, 61
- Графская Е.Н., 5
- Грефенштейн М.А., 15
- Гривенников И.А., 15, 42
- Григорьев А.С., 41
- Гридина М.М., 44
- Гриненко Н.Ф., 12
- Гудков И., 49
- Гундорова П.В., 26, 40
- Гурков А.Н., 53
- Гусева П.А., 26
- Давыденко О.Г., 37, 42
- Дадали Е.Л., 8
- Дакс А.А., 10, 23, 27, 59, 61, 62, 63
- Даниленко Н.Г., 37, 42
- Демидюк И.В., 62
- Дергунова Л.В., 43
- Дерябин Д.Г., 54
- Дидыч Д.А., 6, 27
- Дмитриева В.Г., 43
- Долгих О.А., 38
- Долотов О.В., 42
- Дробот Н.И., 28
- Дроздова П.Б., 28
- Дубатолов В.В., 57
- Дубовская В.И., 29
- Дюков Е.В., 13
- Еникеева Р.Ф., 29
- Ермакова А.В., 30
- Ершов Н.И., 52
- Ершова Е.С., 38
- Есюнина Д.М., 7, 13, 49
- Ефимов Г.А., 30
- Ефимова П.Р., 30
- Жигалина Д.И., 31
- Жимулёв И.Ф., 56
- Журавлева Г.А., 28
- Заднепрянец М.Г., 31, 39
- Земская Н.В., 32
- Зиновьев Е., 18
- Зинченко Р.А., 26
- Золотаренко А.Д., 51, 57
- Зыкова Е.А., 47
- Зыкова Т.Ю., 56
- Иванова Е.А., 32
- Игнатов А.В., 33
- Иллариошкин С.Н., 60
- Илленко В., 49
- Имамходжаева А.С., 34
- Иноземцева Л.С., 42
- Исаева О.В., 35
- Йежкова Л., 31, 39
- Казанцева А.В., 29
- Кальянов А.А., 38
- Камбурова В.С., 34
- Каменева Л.С., 38
- Каминская А.Н., 34
- Канбекова О.Р., 31
- Карабанов Д.П., 16
- Карабань И.Н., 37
- Карасева М.А., 35
- Каргатов А.М., 21
- Каримов Д.Д., 58
- Карлсен А.А., 35
- Кашеварова А.А., 44
- Кашина И.Ю., 9
- Кизенко А.И., 36
- Киямова Р.Г., 25, 45
- Кленов М.С., 60
- Климова В.С., 23
- Кобылянский А.Г., 15
- Кожина Р.А., 36
- Кокшарова О.А., 51
- Коломин Т.А., 60
- Коляда А.К., 17, 37, 39, 46
- Комиссаров А.А., 35
- Кондратенко А.С., 37, 42
- Кондратьева С.А., 38
- Коновалов Ф.А., 8
- Конькова М.С., 38
- Костерин О.Э., 57
- Костюк С.В., 38
- Котов А.А., 14, 25
- Красненков Д.С., 13, 37, 39
- Красный С.А., 9
- Круглякова Е.А., 31, 39
- Кузнецова В.В., 40
- Кузнецова И.А., 40
- Кузьмина Е.А., 36
- Кулемзин С.В., 40, 56, 61
- Кульбачинский А.В., 7, 13, 33, 49
- Куприянова Е.В., 50
- Курдюмов А., 18
- Курко О.Д., 42
- Кюрегян К.К., 35

- Лагунин А.А., 29
 Лебедев И.Н., 23, 31
 Лебедева О.С., 15
 Лепешко А.А., 52
 Лимборская С.А., 43
 Липасова В.А., 50
 Лукьянов К.А., 50
 Луницын А.В., 20
 Лялина Т.А., 23
- Мазай А.К., 41
 Мазитова А.М., 45
 Мазурова А.С., 41
 Майновская О.А., 9
 Макамов А.Х., 17
 Макаревич А.Е., 42
 Макарова А.В., 19, 33
 Максименко О.Г., 47, 55
 Малиновская Е.М., 38
 Манувера В., 18
 Марков Д.Д., 42
 Маркова Т.Г., 46
 Мартынова Е.У., 48
 Марченков А.М., 6
 Матвеева Н.М., 44
 Медведева Е.В., 43
 Медведева Ю.С., 43
 Межнина О.А., 44
 Мельников П.А., 12
 Мензоров А.Г., 44
 Меркулов В.О., 27
 Микильчик Н.В., 24
 Мингажева Э.Т., 45
 Минибаева Ф.В., 55
 Минигулова Л.Ф., 45
 Миронович О.Л., 14, 46
 Михайлов М.И., 35
 Можаровская Л.В., 7
 Мордухович В.В., 10
 Мосейко В.В., 46
 Москалёв А.А., 32
 Мустафина О.Е., 58
 Мухамадеева Р.А., 26
 Мытько Ю.А., 24
 Мясоедов Н.Ф., 60
- Набебина Т.И., 9
 Насибуллин Т.Р., 58
 Наякшин А.М., 56
 Неупокоева А.С., 15
 Ниязова С.С., 24
 Новосадова Е.В., 15
 Нуколова Н.В., 12
- Оленина Л.В., 14, 25
 Олина А.В., 13
 Орлов М.А., 47
 Осадчий И.С., 47
 Оюн Н.Ю., 48
- Паренюк Е., 49
 Пасюкова Е.Г., 59
 Петухов А.В., 10, 23, 27, 36, 59, 62, 63
 Петушков И.В., 49
- Плюта В.А., 50
 Погодин П.В., 29
 Подвальная Н.М., 50
 Полина Н.Ф., 5
 Поляков А.В., 8, 14, 22, 26, 32, 40, 46
 Пономаренко А.А., 9
 Попова А.А., 50, 51
 Поройков В.В., 29
 Поспелов В.А., 34
 Поспехова Н.И., 9
 Преловская А.Н., 51, 57
 Пристяжнюк И.Е., 44
 Прокопов Д.Ю., 52
 Прокофьева Д.С., 45
 Пупов Д.В., 7
 Пылина Я.И., 22
- Решетников В.В., 52
 Ржечицкий Я.А., 53
 Рогожин Е.А., 18
 Рогожина Ю.А., 14
 Рожкова А.М., 24
 Ролевич А.И., 9
 Романишко Е.Л., 53
 Романова А.Р., 29
 Рощина Н.В., 59
 Рубан Ю.В., 54
 Румянцева В.А., 14
 Рунина А.В., 54
 Рыжкова О.П., 8, 22
 Рябовол В.В., 55
 Рясик А.А., 47
- Сабиров М.С., 55
 Савчин Д.В., 63
 Сакаева Д.Д., 45
 Салина Е.Г., 41
 Самофалова Д., 49
 Санамьян М.Ф., 17
 Сафина Д.Р., 62
 Свердлов Е.Д., 27
 Свищева Г.Р., 48
 Семенова С.К., 7
 Семякина А.Н., 14
 Серебрийский И.Г., 26, 45
 Серебровская Е.О., 50
 Серов О.Л., 23
 Сидоренко Д.С., 56
 Сидоренко И.А., 8, 56
 Скворцова Ю.В., 38
 Скрипова В.С., 45
 Скрыбин Н.А., 23, 31, 44
 Сломинский П.А., 60
 Смаль М.П., 9
 Смирнова Е.В., 31, 39
 Соболева Н.В., 35
 Сократян А.М., 56
 Соловьев В.И., 57
 Сорокин А.А., 47
 Сорокина К.С., 51, 57
 Ставровская А.В., 60
 Старовойтова А.С., 54
 Столповский Ю.А., 48
 Студеникина А.А., 52
- Таранин А.В., 40, 56, 61
 Тимашева Я.Р., 58
 Тимофеев М.А., 53
 Топчу Ю.А., 58
 Тростников М.В., 59
 Троценко О.Е., 35
 Туктарова И.А., 58
- Урбанович О.Ю., 44, 63
 Урум А.В., 48
- Федосеева И.В., 63
 Фесенко И.А., 5
 Фелелова Е.А., 60
 Фёдорова О.А., 10, 23, 27, 59, 61, 62
 Филатова Е.В., 60
 Филоненко В.В., 25
 Филькин С.Ю., 30
 Фишман В.С., 23
- Хазигалеева Р.А., 5
 Халангот Д.Н., 39
 Харлампиева Д.Д., 5
 Харченко В.Д., 61
 Хмель И.А., 50
 Ходаева А.Ю., 15
 Хрисанфова Г.Г., 7
 Хуснутдинова Э.К., 29, 45
- Цуканов А.С., 9
- Чакова Н.Н., 24
 Чаусов В.Н., 36
 Чекалин Е.В., 51, 57
 Черникова А.С., 50
 Черникова Д.С., 61
 Чехонин В.П., 12
 Чиргадзе Ю.Н., 21
 Чичкова Н.В., 55
 Чуприянова Т.А., 50
 Чухонцева К.Н., 62
- Шаванова К.Е., 49, 54
 Шадрин Д.М., 22
 Шадрина М.И., 60
 Шакирова А.И., 10, 62
 Шатарнова Т.М., 37
 Шатилина Ж.М., 53
 Шашкова Т.И., 5
 Шелыгин Ю.А., 9
 Шерматов Ш.Э., 34
 Шилкин Е.С., 33
 Шишлова-Соколовская А.М., 63
 Шкляева М.А., 63
 Шнайдер Т.А., 44
 Шрам С.И., 50
 Шубин В.П., 9
 Шувалов О.Ю., 10, 23, 27, 36, 59, 62
- Щаюк А.Н., 24
 Щукина В.Д., 18
- Эрдман В.В., 41, 58
- Ягодина В.Д., 10