

Поиск ассоциации вариабельности минисателлитного повтора в промоторной части гена моноаминоксидазы А с развитием панического расстройства у человека

Афончикова Елена Вячеславовна

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,

биологический факультет, Москва, Россия,

alenaafonchikova@gmail.com

Паническое расстройство (ПР) – это тревожное заболевание, характеризующееся внезапными и рецидивными атаками страха или тревоги (паническая атака), часто сопровождаемое физическими симптомами. Ген, кодирующий фермент моноаминоксидазу А (МАОА), рассматривается как один из кандидатов, вовлеченных в процесс развития ПР. В промоторной части МАОА был обнаружен минисателлитный повтор (VNTR), длиной 30 п.н., который может быть представлен 3, 3,5, 4 и 5 копиями (Sabol et al., 1998). Данные, полученные в результате изучения промоторной части МАОА, чрезвычайно противоречивы. Считается, что длинные аллели (3,5, 4, и 5) более функционально активны, чем короткий аллель (3), и как следствие повышенная активность гена МАОА связана с развитием ПР человека (Schulze et al., 2000). Магон с соавторами считают, что пациенты менее подвержены развитию индуцированных панических атак при наличии длинных аллелей гена МАОА, что не согласуется с данными полученными от других исследователей (Deckert et al., 1999) Целью данной работы было исследование вариабельности минисателлитного повтора в промоторной части МАОА, на выборке пациентов из Москвы и Московской области с диагнозом ПР (n=68, образцы предоставлены Отделом неврологии и клинической нейрофизиологии НИЦ Первого МГМУ им. И.М.Сеченова) и контрольной выборке необследованных жителей Москвы и Московской области (n=186, образцы с московской станции переливания крови). Работа проведена с использованием стандартных молекулярно-биологических методов (ПЦР, капиллярный электрофорез) и популяционно-статистических методов обсчета полученных данных. Аллели 3,5R и 5R не были обнаружены в исследованных выборках. Для остальных аллелей были показаны следующие частоты у больных ПР: 2R – 0,404±0,060, 3R – 0,588±0,060, 4R – 0,007±0,010, в контрольной выборке: 2R – 0,363±0,035, 3R – 0,621±0,036, 4R – 0,016±0,009. Сравнение частот аллелей у больных и контроля не выявил статистически значимых отличий. Таким образом, на выборке жителей Москвы и Московской области показано, что вариабельность минисателлитного повтора в промоторной части гена МАОА не привносит значимого вклада в развитие панических расстройств.

Исследование влияния активного ретровируса *gypsy* на продолжительность жизни

Drosophila melanogaster

Букреева Дарья Сергеевна¹, Урусов Феликс Анатольевич²

¹*Российский Университет Дружбы Народов, экологический факультет, Москва, Россия*

²*Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,*

Москва, Россия

norven.2007@mail.ru

flanger.fx@mail.ru

Мобильные генетические элементы (МГЭ), относящиеся к классу ретротранспозонов с длинными концевыми повторами (ДКП), имеют значительное сходство с ретровирусами по структуре и способу репликации. Показано, что ДКП- ретротранспозоны *Drosophila melanogaster gypsy*, *Zam* и *Idefix* являются ретровирусами, т.к. способны формировать вирусные частицы. Неконтролируемые перемещения МГЭ и повышенная активность ретровирусов могут приводить к негативным последствиям для организма, вызывая мутации и хромосомные перестройки; т.е., МГЭ и ретровирусы могут быть мощным фактором, влияющим на

продолжительность и качество жизни организмов. В ходе эволюции образовались механизмы, ограничивающие перемещения ретротранспозонов. Показано, что транспозиционная активность одного из элементов группы Gypsy - *gypsy* контролируется геном *flamenco*. В линиях, мутантных по гену *flamenco* наблюдается высокая частота транспозиций *gypsy*. Предполагается, что и другие элементы контролируются этим же геном.

В настоящей работе мы проанализировали транспозиционную активность одиннадцати МГЭ группы Gypsy (*Transpac, gypsy, ZAM, Idefix, Tirant, Quasimodo, opus, 17.6, 297, rover, springer*) в изогенных линиях *D. Melanogaster* 145 и 7К, мутантных по гену *flamenco*. Использовали метод обратной ПЦР с последующим подтверждением специфичности продуктов саузерн-блоттингом. Для *rover* и *springer* в линиях 145 и 7К, для *gypsy* в линии 145 было доказано наличие транспозиционной активности. Исследована продолжительность жизни (ПЖ) линий 145 (наличие активного ретровируса *gypsy*), 7К и С3 (генотип *flamenco*⁺) с целью оценка влияния активного ретровируса *gypsy* на этот признак. Было показано, что наименьшую ПЖ имеет линия 145, наибольшую – 7К, линия С3 имела промежуточное значение. Таким образом, (1) наличие активного ретровируса *gypsy* на фоне мутантного генотипа *flamenco* и, соответственно, нарушенного контроля транспозиции *gypsy*, приводит к резкому снижению ПЖ линии 145. (2) Отсутствие ретровируса *gypsy* в линии С3 (генотип *flamenco*⁺) повышает её ПЖ. (3) Наибольшая ПЖ в линии 7К (генотип *flamenco*⁻) может быть обусловлена отсутствием полноценной копии активного ретротранспозона *gypsy*, снятием контроля над другими мобильными элементами, которые в результате своей транспозиционной активности приводят к увеличению ПЖ..

Генетическая дивергенция митохондриальных геномов возбудителей фасциолеза - печеночных сосальщиков *Fasciola hepatica* и *F.gigantica*

Гуляев Андрей Сергеевич

Институт биологии гена РАН, Всероссийский Институт гельминтологии имени К.И.

Скрябина РАСХН, Москва, Россия

andrewgull87@gmail.com

Паразиты человека и животных печеночные сосальщики рода *Fasciola* имеют широкое распространение и представлены двумя видами (*F.hepatica* и *F.gigantica*), отличающимися по патогенности. Цель настоящей работы - сравнительный анализ структуры мт-последовательностей 12 белок-кодирующих генов, генов тРНК и рРНК двух видов, собранных на территории России, Белоруссии, Армении, Эквадора (*F.hepatica*, n=4), Узбекистана и Дагестана (*F.gigantica*, n=2). Для получения последовательностей использовали ПЦР с 30 парами локус-специфичных праймеров, секвенирование ампликонов и их компьютерный анализ. Белок-кодирующие участки генома двух видов незначительно отличаются по длине (у *F.gigantica* - 10086 п.н., у *F.hepatica* - 10065 п.н.) за счет увеличения длины гена *cox1* на 24 п.н и уменьшения *nad5* на 3 п.н. Уровень дивергенции между нуклеотидными последовательностями *F.hepatica* и *F.gigantica* составляет 12.3 %, что примерно в десять раз больше уровня внутривидового полиморфизма у *F.hepatica*. Обнаружены межвидовые различия в использовании старт- и стоп-кодонов четырех генов *nad4, nad1, cox1, nad5*, а также различия в последовательностях и вторичных структурах всех тРНК, кроме изолейцина (I) и серина (S2), и двух субъединиц рРНК. Филогенетический анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей подтвердил показанное ранее по генам *cox1, nad1* наличие в популяциях *F.hepatica* двух линий митотипов, имеющих разное происхождение. Дивергенция аминокислотных последовательностей между двумя видами составила 3.5%, между линиями *F.hepatica* – 2.5%. Обсуждаются особенности эволюции мт-геномов двух видов, их происхождение, эволюция линий, возможная связь с различиями в патогенности и эпидемиологическое значение.

Автор признателен научным руководителям Семеновой С.К. и Васильеву В. А.

Работа выполнена в лаборатории организации генома ИБГ РАН при содействии сотрудников ЦПА ИПЭЭ РАН, и ВИГИСа и частично финансировались из грантов РФФИ (12-04-01153-а), ФЦП ГК № П1043, № 02.740.11.0088.

Полиморфизм ДНК в популяциях пингвинов дженту - *Pygoscelis papua*

Драницина Алевтина Сергеевна

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Киев, Украина

alevtina.dranitsina@gmail.com

Пингвины дженту (*Pygoscelis papua*) доминируют в условиях Антарктического полуострова, но практически не исследованы. Генетическое разнообразие популяций пингвинов дженту двух островов, длина теломер и пол в качестве биоиндикаторов в изучении популяций дженту в связи с состоянием окружающей среды Антарктической экосистемы были проанализированы в этой работе с использованием RAPD-ПЦР, ПЦР со специфическими праймерами, клонирования в плазмидный вектор *pUC19* теломерных повторов, гибридизации зонда на основе дигоксигенина с геномной ДНК.

RAPD анализ выявил разные уровни полиморфизма пингвинов дженту о. Питерманн (от 23,53 до 42,86%) и о. Ливингстон (от 52,94 до 57,14%). Среднее значение F_{st} составило 6,9%, следовательно, была подтверждена принадлежность исследуемых популяций к одному и тому же подвиду (*Pygoscelis papua ellsworthi*). Индексы самка/самец (пропорция для самок) составляли: 0,336 для популяции о. Питерманн и 0,398 о. Ливингстон. Только 20 пингвинов о. Питерманн были самками среди 98 птенцов ($\chi^2=4,1$, $df=1$, $p=0,04$), таким образом, гипотеза Фишера статистически достоверно не была подтверждена. AM12 и RM6 микросателлитные локусы в обеих популяциях дженту были абсолютно мономорфными с одним только аллелем. Для RM3 было обнаружено 2 аллеля: 221 п.н. и новый аллель - 217 п.н. Также была подтверждена принадлежность популяций к одному и тому же подвиду (*Pygoscelis papua ellsworthi*), $F_{st}<0,04$. Средняя выявленная длина теломер взрослых особей пингвинов дженту ($n=20$) составила приблизительно 5950 ± 1537 п.н., птенцов ($n=25$) - $8100\pm 949,1$ п.н. ($p<0,0001$). Максимальная длина теломер, обнаруженная у птенцов, была около 9000 п.н., минимальная – 6200 п.н.. У взрослых птиц – 8000 п.н. и 3100 п.н., соответственно.

Полученные данные подтверждают высокий уровень родства между двумя популяциями пингвинов дженту с отсутствием значительной генетической дифференциации между ними, несмотря на существенный уровень генетического полиморфизма. Длина теломер (около 9000 п.н.) оказалась максимальной для особей пингвинов этого вида. Возраст и пол могут быть использованы как удобные биоиндикаторы исследований популяций пингвинов дженту относительно давления антропогенных факторов на экосистему Антарктического полуострова.

Полиморфизм IRAP-PCR маркеров в геномах лошадей, овец и крупного рогатого скота

Елькина Мария Александровна

РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

mariyaelkina@yahoo.com

Проблемы идентификации пород, оценок их происхождения и консолидированности зачастую не могут быть решены на уровне фенотипических признаков в связи с их широкой изменчивостью. В этих целях широко используют различные типы молекулярно-генетических маркеров (МГМ), одними из которых являются мобильные генетические элементы. В целях поиска надежных МГМ для пород и видов крупного рогатого скота, овец, лошадей в данном исследовании выполнено полилокусное генотипирование по IRAP-PCR маркерам с использованием в качестве праймеров участков ретротранспозонов (праймеры LTR SIRE-1 – терминальный повтор ретротранспозона сои, и RawS 5 - зерновых). Идентифицирован и оценен полиморфизм по 28 и 25 фрагментам ДНК, фланкированных инвертированными терминальными участками ретротранспозонов SIRE-1 и RawS 5, соответственно. В полученных спектрах присутствуют фрагменты в диапазоне длин 1500 - 300 п.о. (праймер SIRE-1), 1300 - 480 п.о. (праймер RawS). Генетическую структуру пород оценивали по полиморфному информационному содержанию (Polymorphic Information Content - PIC), по доле полиморфных локусов (P). Рассчитывали значения генетических расстояний (DN, M.Nei, 1978), на основе которых были построены дендрограммы. Выявленные генетические взаимоотношения соответствовали истории формирования сравниваемых видов и пород, то есть их полиморфизм вовлекался в межвидовую и межпородную дифференциацию. Чтобы оценить возможность

локализации в геноме крупного рогатого скота участков ДНК, гомологичных ретротранспозонам растений, с помощью программы BLASTn выполнен их поиск в ГенБанке. Участки с частичной гомологией обнаруживаются в 20 из 29 аутосом крупного рогатого скота. В базе данных экспрессирующихся последовательностей выявлены гомологичные участки в мРНК ряда генов, кодирующих регуляторные и сигнальные белки. В результате проведенных исследований показано, что генотипирование с использованием IRAP-PCR маркеров позволяет подбирать полилокусные сочетания, отличающие одну породу от другой у всех трех видов, оценивать происхождение и консолидированность исследованных групп животных, а также использовать эти данные для создания тест-систем для каждой отдельной породы.

Анализ аллоцитоплазматических гибридов пшеницы на аллельное состояние генов *Wx*

Климушина Марина Вячеславовна

Российский Государственный Аграрный Университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Центр молекулярной биотехнологии, Москва 127550

mklimushina@yandex.ru

Исследования мутантов *Wx*-пшеницы показали, что гранул-связанная синтаза крахмала I (GBSSI) отвечает за синтез амилозы в крахмальных гранулах. Мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) содержит три гомологичных гена *Wx*, расположенных в 7AS (*Wx-A1*), 4AL (*Wx-B1*) и 7DS (*Wx-D1*). Каждый из генов *Wx* пшеницы имеет несколько аллелей: активный аллель (*a*), кодирующий синтез определенного белка *Waxy*; неактивный (*v* – нуль-аллель), блокирующий синтез *Waxy*; и функциональные аллели, отличающиеся от аллеля дикого типа. Аллоцитоплазматические гибриды пшеницы (АЦПГ) являются удобной моделью для изучения характера взаимодействий плазмагенов с хромосомной генной системой и регулирования экспрессии ядерного генома. Цель работы - оценка аллоцитоплазматических гибридов пшеницы на аллельное состояние генов *Wx*. С помощью набора молекулярных маркеров проанализировано 22 гибрида аллоцитоплазматической яровой пшеницы *T. aestivum* L. на цитоплазме *Secale cereale* L., *Aegilops ovata* и *T. timopheevi* Zhuk.

В результате анализа коллекции АЦПГ на аллельное состояние гена *Wx-A1* было выявлено, что 12 гибридов несут в своем геноме аллель *Wx-A1a* – аллель нормального типа. У 6 гибридов отсутствовала амплификация фрагмента свойственного гену *Wx-A1*, таким образом можно предположить, что данный ген у исследуемых линий полностью элиминирован, что в мягкой пшенице ранее не встречалось. Вероятно в данном случае будет отсутствовать экспрессия данного гена, как и при наличии нуль-аллеля, что приведет к снижению содержания амилозы в крахмале зерновки. 4 образца расщеплялись по изучаемому признаку. Скрининг коллекции АЦПГ на аллельное состояние гена *Wx-B1* выявил, что 7 образцов несут в своем геноме аллель *Wx-B1a*. У 5 образцов отсутствовала амплификация фрагмента, свойственного для гена *Wx-A1*, что полностью совпало с данными амплификации, полученными нами с помощью праймеров на аллельное состояние гена *Wx-A1*. Кроме того у этих линий амплифицировался фрагмент свойственный для *Wx-B1a*. 5 образцов несли аллели *Wx-B1b* (нуль-аллели). У одного гибрида был выявлен уникальный профиль амплификации, несвойственный мягкой пшеницы, следовательно его интерпретация требует дополнительных исследований. 3 образца показали расщепление по типу амплификации. В результате проведенного анализа на аллельное состояние гена *Wx-D1*, выявлено, что все образцы коллекции несут аллель дикого типа *a*.

Функциональный анализ гена *pfsR* цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803

Коробан Надежда Викторовна

Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, биологический
факультет, Москва, Россия
nosy57@gmail.com

В нашей лаборатории проводится систематическое исследование регуляторных генов цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 с помощью их направленной инактивации и полногеномного анализа экспрессии генов. Ранее было показано, что один из исследуемых нами генов, *pfsR*, кодирующий транскрипционный фактор семейства TetR, участвует в регуляции гомеостаза железа [Jantaro et al., 2006. J. Biol. Chem., 281: 30865–30874]. По данным авторов белок PfsR является репрессором и подавляет транскрипцию генов *bfrA* и *bfrB*, кодирующих бактериоферритины. Эти белки депонируют железо в клетке и поэтому играют критическую роль в гомеостазе железа у *Synechocystis*.

Проведенный нами ДНК-микроррей анализ мутанта с инсерционной инактивацией гена *pfsR* из нашей коллекции не выявил изменения в экспрессии генов *bfrA* и *bfrB*, однако показал существенное повышение экспрессии двух других генов, *slr1501* и *slr1113*. Эти гены входят в один оперон *pfsR-slr1501-slr1113* и транскрибируются в противоположном направлении относительно гена *pfsR*. Ген *slr1501*, предположительно, кодирует ацетилтрансферазу, а ген *slr1113* – АТФ-связывающий белок АВС-транспортера. Функции обоих белков неизвестны. Данные ДНК-микроррей анализа подтверждены с помощью Нозерн-блот гибридизации и ПЦР в реальном времени. Рост мутанта с инсерционной инактивацией гена *pfsR* не отличался от роста штамма дикого типа как в стандартной среде, так и в среде не содержащей железа. Таким образом, ген *pfsR* не вовлечен в регуляцию генов бактериоферритинов и, следовательно, не играет критической роли в регуляции гомеостаза железа у *Synechocystis*.

С помощью биоинформатического анализа было установлено, что среди цианобактерий гомолог гена *pfsR* присутствует только в геноме *Synechococcus*, однако широко распространен среди представителей других таксономических групп бактерий. Выявлены предполагаемые сайты связывания белка PfsR, расположенные в лидерной области гена *pfsR*. Эти сайты являются палиндромами и обладают структурными особенностями, свойственным операторным участкам, с которыми связываются регуляторные белки семейства TetR. Аналогичные палиндромы обнаружены в лидерной части ряда гомологов, белковые продукты которых имеют высокое сходство с белком PfsR. В лидерной части генов *bfrA* и *bfrB* таких палиндромов не выявлено. Это является косвенным подтверждением сделанного нами вывода о том, что ген *pfsR* не вовлечен в регуляцию гомеостаза железа у цианобактерий.

Особенности экспрессии генов семейства *ICE*, контролирующей устойчивость к холоду, в растениях *Arabidopsis thaliana* из северных популяций Карелии

Курбидаева Амина Султановна

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
amina.kur@gmail.com

Одной из центральных проблем биологии является проблема адаптации живых организмов к внешним условиям. Объектом исследования были 6 популяций *A.thaliana* Карелии (северная граница ареала вида). Семена любезно предоставлены сотрудниками ИБ КарНЦ РАН. Все популяции характеризуются поздним цветением и высоким уровнем экспрессии гена *FLC*, контролирующего потребность к яровизации. Задачей работы было изучение связи между северными условиями и особенностями экспрессии генов, контролирующей устойчивость к холоду и потребность к яровизации.

Важными регуляторами ответа на холод являются гены *ICE1* и *ICE2*, кодирующие транскрипционные факторы MYC-типа. Ген *ICE1* активирует экспрессию гена *CBF3*. Белок ICE1 присутствует в клетке и при нормальных температурах, однако для его активации требуется индуцируемое холодом пост-трансляционное фосфорилирование. Функция паралога *ICE2* исследована мало. По данным проведенных исследований ген *ICE2* также контролирует

транскрипцию *CBF*-регулона. По данным микроэрей анализа (база GENENVESTIGATOR, <https://www/geneninvestigator.ethz.ch/>), ген *ICE2* имеет более низкий уровень экспрессии по сравнению с *ICE1*. Наши исследования также показали, что уровень экспрессии гена *ICE2* в растениях европейской ранозацветающей расы Dijon, выращенных при 22-24°C, почти в 5 раза ниже, чем таковой гена *ICE1*. В то же время, для растений позднезацветающей экваториальной расы Cvi-0 и природных популяций Карелии различия по уровню экспрессии паралогов были незначительными. При воздействии 4°C (24 ч) не выявлено существенных изменений в уровне транскрипции *ICE1* и *ICE2* у большинства исследованных форм, что согласуется с данными о посттрансляционной регуляции холодом. Таким образом, растения северных популяций и расы Cvi-0, имеющие высокий уровень экспрессии гена *FLC*, характеризуются более высоким уровнем экспрессии *ICE2* по сравнению с европейской расой Dijon. О транскрипционных регуляторах гена *ICE2* (как и *ICE1*) ничего не известно. Наши данные позволяют предположить, что, ген *FLC* может быть активатором транскрипции *ICE2* (но не *ICE1*) в северных популяциях *A.thaliana*.

Работа поддержана РФФИ (№11-04-01306-а) и ФЦП "Ведущие научные школы" (НШ-376.2012.4).

Функциональное взаимодействие между промоторами соседних генов *yellow* и *CG3777* у *Drosophila melanogaster*

Леман Дмитрий Всеволодович, Максименко Оксана Геннадьевна

Учреждение Российской академии наук Институт биологии гена РАН, Москва, Россия
dvleman@mail.com

Последние результаты полногеномных анализов однозначно демонстрируют, что энхансеры, промоторы и инсуляторы могут взаимодействовать между собой, находясь друг от друга на больших дистанциях, порядка десятка, а то и сотен тысяч пар нуклеотидов. Однако функциональное значение большей части сверхдальних контактов между регуляторными элементами остается невыясненным. Ранее, нами было показано, что на транскрипцию гена *yellow* может влиять промотор рядом расположенного гена *CG3777*, имеющего сходный профиль экспрессии. В настоящем исследовании продолжено изучение функционального взаимодействия промоторов генов *yellow* и *CG3777* в трансгенных линиях дрозофилы. В работе было использовано свойство GAL4-активатора не стимулировать экспрессию с промотора гена *yellow*, в случае расположения сайтов для его связывания за 3'-концом гена. В результате, если два элемента, окружающие ген, способны к функциональному взаимодействию друг с другом, происходит сближение GAL4-активатора с транскрипционным комплексом, собранным на промоторе на расстоянии 5 т.п.н. от сайтов GAL4, и, как следствие, стимуляция транскрипции. Полученные результаты однозначно демонстрируют наличие функционального взаимодействия между промоторами *yellow* и *CG3777*, что, по всей видимости, происходит в результате выпетливания молекулы ДНК и, как следствие, физического сближения двух промоторов в пространстве. Наблюдаемый эффект носит явный ориентационно-зависимый характер. Полученные результаты демонстрируют, что взаимное расположение взаимодействующих промоторов играет большую роль для проявления результирующего эффекта. Молекулярный механизм данного феномена межпромоторных взаимодействий требует дополнительных исследований.

Роль фактора CHD1 в формировании структуры хроматина полигенных хромосом *Drosophila Melanogaster* на модели генов теплового шока

Макасе А. А.

*Отделение Молекулярной и Радиационной Биофизики, Петербургского Института Ядерной
Физики им. Б.П. Константинова, Гатчина, Россия*

anna.makase@gmail.com

Эпигенетическое наследование, т.е. наследуемое изменение функционального состояния генов, не сопровождающееся изменением их нуклеотидных последовательностей, является фундаментальным для регуляции развития многоклеточных организмов.

Консервативный хроматин-ремоделирующий белок CHD1 необходим для происходящей на уровне всего генома независимой от репликации реорганизации хроматина спермия у дрозофилы. В полигенных хромосомах CHD1 связывается с регионами активной транскрипции – пуфами и междисками и ко-локализуется с элонгирующей формой РНК полимеразы II. Целью данной работы было исследование роли белка CHD1 в формировании структуры хроматина полигенных хромосом. Для проведения исследования использовался метод непрямой иммунофлуоресценции.

В условиях теплового шока у дрозофилы при синтезе кодирующих белки теплового шока РНК на полигенных хромосомах возникают вздутия (пуфы). Эти области отвечают наиболее деконденсированному состоянию хроматина, где осуществляется активный синтез РНК. При снятии теплового шока пуфы постепенно исчезают, и хроматин возвращается в исходное состояние. Мы исследовали динамику образования и убывания пуфов при тепловом шоке и относительную локализацию элонгирующей формы РНК полимеразы II и фактора CHD1 на полигенных хромосомах у особей дикого типа, при гиперэкспрессии белка CHD1, а также его доминант-негативной формы.

В хромосомах особей дикого типа локализация элонгирующей формы РНК полимеразы II и фактора CHD1 совпадает все время в процессе теплового шока и после его снятия. При гиперэкспрессии как доминант-негативной формы белка CHD1 так и его нативной формы, CHD1 отсутствует в пуфах теплового шока. При гиперэкспрессии доминант-негативного CHD1, так же как и при гиперэкспрессии нативного, после снятия теплового шока нормальная структура хроматина восстанавливается значительно дольше, чем у дикого типа. При этом транскрипция генов теплового шока продолжается даже после снятия стимула – теплового стресса. Полученные результаты свидетельствуют о том, что белок CHD1 участвует в регулировании структуры хроматина у личинок *Drosophila melanogaster* при перенесении ими теплового шока.

Полиморфизм гена *MCT1* у спортсменов

Мустафина Лейсан Джамилевна^{1,2}, Федотовская О.Н.³

¹ФГБОУ ВПО «Поволжская ГАФКСиТ», Россия, Казань

²ГОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет», Россия, Казань

³ФГУ «Санкт-Петербургский НИИ физической культуры», Санкт-Петербург, Россия,

Mustafina_LD@mail.ru

Во время физических упражнений интенсивный анаэробный гликолиз происходит в скелетных мышцах, где он поставляет энергию для мышечных сокращений, в результате образуется лактат и ионы водорода. При нагрузках высокой интенсивности их уровень может значительно повышаться, поэтому необходима своевременная утилизация продуктов анаэробного обмена. Молочная кислота транспортируется из клетки с помощью специфического переносчика лактата - монокарбоксилата (MCT1). MCT1 - это белок, который кодируется геном MCT1. Было показано, что A1470T полиморфизм гена MCT1 связан с уровнем транспорта лактата в скелетных мышцах человека (наличие А аллеля ассоциируется с усиленным транспортом лактата). Цель исследования заключалась в изучении распределения генотипов и частот аллелей гена MCT1 (A1470T полиморфизм) у профессиональных спортсменов и у лиц контрольной группы.

В исследовании приняли участие 323 спортсмена (81 женщина и 242 мужчины, в возрасте 23.7 ± 2.8 лет), специализирующихся в различных видах спорта. Контрольная группа состояла из 467 человек (198 женщин и 269 мужчин, в возрасте 18.9 ± 2.3 лет). A1470T полиморфизм гена *MCT1* определяли методом ПЦР и последующей рестрикции. Статистическая обработка данных выполнялась с использованием программы «GraphPad InStat». Значимость различий определяли с применением критерия χ^2 или критерия Фишера. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

Нами было выявлено, что частоты А аллеля (75.4 против 62.5%, $p < 0.0001$) и АА генотипа (59.8 против 39.4%, $p < 0.0001$) были значимо выше в группе спортсменов с преимущественным развитием выносливости ($n=142$) по сравнению с контрольной группой. Такая же тенденция наблюдалась и в общей группе спортсменов (частота А аллеля: 71.8 против 62.5%, $p < 0.0001$; частота АА генотипа: 57.0 против 39.4% по сравнению с контролем). Таким образом, A1470T полиморфизм гена *MCT1* ассоциируется с предрасположенностью к занятиям спортом, при этом *MCT1* А аллель можно отнести к маркерам выносливости.

Genogeography of human Y chromosome haplogroup R1b1b in Armenia

Hovhannisyan Anahit, Khachatryan Zaruhi

*Department of Medicine and Biology, Russian-Armenian (Slavonic) University, Armenia, Yerevan
hovhannisyananahit19@gmail.com*

One of the principal problems in human population genetics is the peopling of Europe and the spread of agriculture, which is presently intensively debated. Recent studies suggested that haplogroup R1b1b-M269, which is the commonest haplogroup in European populations, was spread with farming from the Near-East via Anatolia to Europe during the Neolithic transition. These studies, however, did not include datasets from Armenia, though it encompasses an important area given the expansion of Middle-Eastern populations.

We used Y-chromosome data of 105 Armenians (Syunik) and comparative datasets of different European populations to test a possible distribution of haplogroup R1b1b from Armenian Highland into Europe. Frequencies and microsatellite diversities were calculated by ARLEQUIN and displayed by Surfer program. The age of the haplogroup was evaluated by the Zhivotovsky formula.

The results showed that the R1b1b-M269 frequency was about 40% in Syunik. The lowest frequencies (15-20%) were observed in East-European populations, while the highest levels (>85%) were in Western Europe. The diversity rate of the lineage in Syunik reached up to 0.985, being quite high compared to European populations. The maps of geographical distribution of haplogroup R1b1b showed an increasing frequency cline from east to west, while the genetic diversity distribution is changed in the opposite direction. The age of haplogroup was about 12,000 years which is much higher than in West Europe.

The study of haplogroup R1b1b distribution demonstrated that in the Armenian population of Syunik the haplogroup frequency is the highest compared with Eastern-European populations (including Anatolia). Furthermore, the age and genetic diversity rate of the haplogroup were found to be the highest when comparing with Western European populations. The results allow proposing a more comprehensive hypothesis, which expands the region of possible origin of the haplogroup. Further studies with sufficiently large sample sizes from Middle-East should provide further insights.

Структурно-функциональный анализ интеграз ДКП-ретротранспозонов

Drosophila melanogaster gypsy, ZAM и 17,6

Радион Елизавета Ивановна

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический
факультет, Москва, Россия
radion-radion.90@mail.ru*

Одним из классов мобильных генетических элементов являются ретротранспозоны, фланкированные длинными концевыми повторами (ДКП-ретротранспозоны), имеющие значительное структурное сходство с ретровирусами. Для наиболее изученного ДКП-

ретротранспозона *Drosophila melanogaster – gypsy* – была показана способность к формированию вирусных частиц и горизонтальному переносу генетического материала. Репликация как ретровирусов, так и ретротранспозонов осуществляется посредством обратной транскрипции их РНК и интеграции ДНК-копии в геном хозяина, после чего с этой копии транскрибируются новые РНК. Интеграция является важным этапом транспозиции ретроэлементов и осуществляется с помощью фермента интегразы, которая распознает сайт-мишень в геномной ДНК, расщепляет его и производит интеграцию ДНК-копии ретроэлемента. Следует отметить, что интеграза – перспективная мишень для воздействия антиретровирусных лекарственных препаратов, поскольку ингибирование интеграции служит препятствием для дальнейшего развития вирусной инфекции. В связи с этим, исследования механизмов функционирования интеграз являются крайне актуальными. Показано, что встроенные в геном копии ДКП-ретротранспозонов могут подвергаться вырезанию с восстановлением сайта интеграции, но это явление практически не изучено. Ранее в нашей лаборатории продемонстрирована способность интегразы ДКП-ретротранспозона *gypsy* к вырезанию ДКП этого элемента из плазмиды в модельной системе на основе *Escherichia coli*.

Цель работы - получение рекомбинантных интеграз ДКП-ретротранспозонов *D.melanogaster* и исследование их свойств *in vitro*. Мы клонировали нуклеотидные последовательности интеграз трех мобильных элементов *D.melanogaster – gypsy*, *ZAM* и *17,6* – в экспрессионный вектор рЕТ30 под промотор, индуцируемый IPTG. Полученными конструкциями трансформировали клетки *E.coli* штаммов *Rosetta* и *BL21*, адаптированных для экспрессии эукариотических генов, рекомбинантные белки выделяли с помощью аффинной хроматографии. Получены препараты рекомбинантных интеграз *gypsy*, *17,6* и *ZAM*. Для тестирования активности рекомбинантных интеграз использовали матрицы, содержащие сайты-мишени TATATA, ATATAT и CGCGCG, специфичные для исследуемых интеграз.

Полиморфизм промоторной области генов серотониновых рецепторов первого и второго типа А (*HTR1A* и *HTR2A*) у мужчин африканских популяций хадза и датога

Суходольская Евгения Михайловна

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена РАН,
Москва, Россия*

j.suchodolskaya@gmail.com

Изучение психогенетических основ агрессивного поведения является одним из важнейших современных направлений науки. Целью настоящей работы явилось изучение генетической вариабельности двух генов-кандидатов (*HTR1A* и *HTR2A*), предположительно ассоциированных с агрессивным поведением, в традиционных африканских племенных обществах, характеризующихся разным уровнем культурно допустимой агрессии – хадза и датога. Ранее в промоторной области данных генов были обнаружены функционально значимые нуклеотидные замены: G1019C для *HTR1A* и A1438G для *HTR2A*. В данной работе исследовали полиморфизм этих областей в популяциях хадза (n=126) и датога (n=165). ДНК выделяли из образцов буккального эпителия. Анализ полиморфизма проводили с помощью локус-специфичной ПЦР и последующей обработки рестриктазами *Bse* GI (*HTR1A*) и *Msp* I (*HTR2A*). Сравнение генотипов *HTR2A* не выявило достоверных отличий по частоте распределения гомо- и гетерозигот в исследуемых популяциях. Однако, распределение гомозиготных генотипов *HTR1A* G/G и *HTR1A* C/C в обеих группах показало достоверные отличия: у хадза, эгалитарных охотников-собирателей - 0,69 и 0,02; у датога, военизированных полуседлых скотоводов - 0,23 и 0,32, соответственно. Эти данные показывают, что у хадза значительно чаще встречается G аллель с высокой транскрипционной активностью, что говорит о высоком содержании данного рецептора в организме носителей. Мы полагаем, что описанные выше различия в популяциях хадза и датога связаны с различными внутри- и межгрупповыми адаптациями социальной конкуренции. Изучение ассоциаций генетических вариантов *HTR1A* с различными формами девиантного агрессивного поведения в популяциях хадза и датога является предметом нашей дальнейшей работы.

Выражаю благодарность моему научному руководителю к.б.н. Васильеву В. А. Работа выполнена при поддержке РГНФ (гранты №№ 08-01-00015а и 1101-00287а), ФЦП Кадры (ГК № 16.740.11.0172) и Программ Президиума РАН “Фундаментальные науки – медицине” и “Молекулярная и клеточная биология”.

Комплексный анализ вклада полиморфизма генов воспаления в предрасположенность к ишемическому инсульту у русских

Титов Борис Васильевич

*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова
Минздравсоцразвития РФ, Медико-Биологический факультет, Москва, Россия
bsgrey@mail.ru*

В России, как и во всем мире, острые нарушения мозгового кровообращения, в частности, ишемический инсульт (ИИ), являются одной из важнейших медико-социальных проблем. ИИ относится к комплексным (мультифакториальным) заболеваниям, его развитие обусловлено как воздействием факторов внешней среды, так и наследственной предрасположенностью. Большая роль в развитии ИИ принадлежит воспалению. Целью работы являлся комплексный анализ вклада в предрасположенность к ИИ в русской этнической группе полиморфизма ряда генов системы воспаления. Проведено геномное типирование полиморфных участков –509С>Т, 869Т>С и 915G>С гена *TGFB1*, –590С>Т гена *IL4*, –174G>С гена *IL6*, 41G>А и 87С>Т гена *PDE4D*, –308А>G гена *TNF*, 874А>Т гена *IFNG*, 252А>G гена *LTA* и 49А>G гена *CTLA4* у пациентов с ИИ (200 человек) и в контрольной группе (146 человек).

Наблюдали позитивную ассоциацию с ИИ носительства аллеля *IL6**–174G ($p=0.002$, ОШ=2.87, 95% ДИ: 1.43-5.75), генотипа *TGFB1**–509Т/Т ($p=0.02$, ОШ=2.3, 95% ДИ: 1.1-4.9) и аллеля *PDE4D**87С ($p=0.028$, ОШ=1.6, 95% ДИ: 1.01-2.5). Комплексный анализ совместного вклада исследованных генов с помощью алгоритма APSampler показал, что аллели/генотипы однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) генов *IL6*, *TGFB1* и *PDE4D* более значимо, чем поодиночке, ассоциированы с ИИ в составе следующих совместных сочетаний: *IL6**–174G + *TGFB1**915G/G ($p=0.0003$, ОШ=2.44, 95% ДИ: 1.47-4.02), *PDE4D**87С + *TGFB1**–509Т/Т ($p=0.004$, ОШ=4.16, 95% ДИ: 1.4-12.4) и *PDE4D**87С + *TGFB1**915G/G ($p=0.01$, ОШ=1.7, 95% ДИ: 1.1-2.6). Выявлены также протективные сочетания генотипа *IL6**–174С/С или аллеля *TGFB1**–509С с аллелями генов, носительство которых порознь не было значимо ассоциировано с ИИ; в состав этих протективных би- и триаллельных сочетаний входили аллели *IFNG**874А, *TNF**–308G, *IL4**–590С или *CTLA4** 49А.

Показан кумулятивный эффект SNP ряда генов системы воспаления на развитие ИИ, причем основными факторами риска является носительство аллелей *IL6**–174G, *PDE4D**87С и генотипа *TGFB1**–509Т/Т. Ассоциации ИИ с аллелями/генотипами каждого из них, наблюдаемые при сравнении общих групп больных и контролей, при стратификации общих групп на две подгруппы по полу или по возрасту, сохраняются, по крайней мере, в одной из подгрупп, т.е. валидируются на подвыборках общей выборки. Полученные данные могут быть использованы для оценки индивидуального риска развития ИИ.

Исследование экспрессии и транспозиции ретроэлемента *Tirant* в линиях *Drosophila melanogaster*, мутантных по гену *flamenco*

Урусов Феликс Анатольевич, Шмелькова Анна Олеговна

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет,
Москва, Россия
flanger.fx@mail.ru*

Мобильные генетические элементы (МГЭ) составляют значительную часть генома эукариотических организмов. Различают транспозоны (перемещение по механизму вырезания/встраивания) и ретротранспозоны (перемещение происходит через РНК-интермедиат). Ретротранспозоны с длинными концевыми повторами (ДКП-ретротранспозоны) проявляют значительное структурное и функциональное сходство с ретровирусами. Для

наиболее изученного ретротранспозона *D.melanogaster – gypsy* показана способность к образованию вирусных частиц и горизонтальному переносу генетического материала.

Помимо *gypsy* в геноме дрозофилы обнаружены родственные ему элементы, которые, согласно классификации, объединены в одноименную группу – *Gypsy*. В ходе исследования экспрессии на уровне транскрипции одиннадцати элементов из данной группы в линии *D.melanogaster* 7К, характеризующейся генотипом *flamenco* и, как следствие, отсутствием контроля транспозиций МГЭ *gypsy*, было обнаружено, что элемент *Tirant* экспрессируется исключительно в яичниках. Однако, при повторении эксперимента на других отводках этой же линии, РНК *Tirant* либо не обнаруживалась вообще, либо детектировалась не только в яичниках, но и в других органах дрозофилы. Такое поведение МГЭ в изогенных линиях может свидетельствовать о том, что в геноме линии 7К имеется копия *Tirant*, способная к перемещению. Данное предположение было подтверждено методом вычитающей гибридизации, с помощью которого мы обнаружили разное геномное окружение мобильного элемента *Tirant* у изогенных линий 7К и 145. На основании этого был сделан вывод о том, что происходит транспозиция этого элемента. Можно предположить, что разная локализация *Tirant* в линиях, имеющих общее происхождение, приводит к тому, что элемент демонстрирует разную картину экспрессии.

Наблюдаемое перемещение МГЭ также может свидетельствовать о контроле транспозиции *Tirant* геном *flamenco*, поскольку линия 7К, а так же ее отводки, использованные в настоящей работе, являются мутантами по этому гену. Известно, что ген *flamenco*, имеющий в своем составе множество дефектных копий МГЭ, является источником антисмысловой РНК-предшественника для системы РНК-интерференции, и принимает участие в контроле транспозиции элементов *gypsy*, *ZAM* и *Idefix*. Не исключено, что и *Tirant* также находится под контролем *flamenco*.

Молекулярно-генетическое исследование генов сердечно-сосудистой системы у спортсменов

Хисматуллина Э.А., Галикеева Г.Ф., Воробьева Е.В., Горбунова В.Ю.

*Башкирский государственный педагогический университет имени М.Акумуллы,
естественно-географический факультет, Уфа, Россия*

obg_bspu@mail.ru

Молекулярно-генетический подход позволяет определить предрасположенность человека к выполнению физических нагрузок и осуществить целенаправленный отбор детей для занятия спортом. В ходе исследования мы провели анализ ассоциаций 4 полиморфных локусов генов, определяющих работу сердечно-сосудистой системы: ренин-ангиотензиновой системы *ACE* (*rs1799752*), *CMA* (*rs1800875*), фолатного цикла *MTHFR* (*rs1801133*) и коагуляционного фактора *V FV* (*rs6025*).

В работе использованы образцы ДНК 270 спортсменов в возрасте 17-30 лет специализирующихся в различных видах спорта. Исследуемая выборка была разделена на группы по уровню спортивных достижений: 1) кандидаты в мастера спорта и мастера спорта; 2) спортсмены 1-2 разряда. ДНК была выделена из периферической крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Анализ полиморфных ДНК-локусов осуществляли методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК и ПДРФ-анализа.

Анализ сцепления исследуемых ДНК-локусов показал, что коэффициент сцепления (показатель *D'*) между полиморфными локусами генов *MTHFR* и *FV* высок и равен 0,7. Выявлено 4 гаплотипа: **C/*G*, **C/*A*, **T/*G*, **T/*A*. Полученные данные сопоставлены с результатами углубленного медицинского обследования, включающего: ЭКГ покоя, ЭхоКГ, анализ крови. Гаплотип **T/*A* предопределяет развитие патологии сердечнососудистой системы при высоких физических нагрузках, а гаплотип **C/*G* является протективным.

Проведен анализ распределения частот сочетаний аллелей четырех полиморфных локусов изученных генов в группах лиц с различным уровнем спортивной подготовки. Проведенный комплексный анализ выявил ряд сочетаний непротективных (**T*A*D*A*) и протективных (**C*G*I*G*) аллелей в отношении сердечнососудистой патологии.

Полученные данные представляют интерес для понимания молекулярно-генетических механизмов предрасположенности к выполнению физических нагрузок, а также могут быть использованы для разработки алгоритма отбора детей и молодежи для занятий профессиональным спортом, основанного на молекулярно-генетическом анализе.

Paternal lineages support Armenian origin of the Hamshenis

Hovhannisyanyan Grant, Margaryan Ashot

*Department of Medical Biology, Russian-Armenian (Slavonic) University, Armenia, Yerevan
gtechbio@gmail.com*

The Hamshenis are an isolated geographic group of Armenians with a strong ethnic identity who until the beginning of the twentieth century inhabited the Pontus area on the southern coast of the Black Sea. Opinions concerning their geographic origins quite differ and point to three alternative hypothesis: Eastern Armenia, which is covered by the present Republic of Armenia, Western Armenia, presented by Eastern Turkey, and Central Asia.

To test these hypotheses we screened 82 Armenian Hamsheni descendants for 6 microsatellite Y-chromosome markers and compared the results with previously published data of populations representing three candidate regions: Syunik (n=296), West Armenians (WA, n=241) and Uzbeks (n=39). Pairwise genetic distances R_{ST} were calculated by Arlequin v3.5. Principal Coordinates Analysis was conducted by GenStat based on R_{ST} genetic distances. Genetic contribution of the three candidate populations to the Hamshenis gene pool were assessed using Admixture v.1.2.

Our results showed that Hamshenis are almost equally distant from Uzbeks and the Armenian groups on the PCO plot. Besides, Western Armenians appear to be genetically closer to Hamshenis than Eastern Armenians. Hamshenis modal haplotype is found only in Western Armenians, whilst the Uzbeki most frequent haplotype is present in trace amounts in Hamsheni, Syunik and WA. Genetic diversity is the lowest in Hamshenis and the highest in Uzbeks and WA. Admixture analysis demonstrated negligible genetic contribution of Uzbeks into Hamsheni gene pool.

The haplotype distribution and pattern of genetic distances suggest a high degree of genetic isolation for the Hamshenis consistent with their retention of a distinct dialect of Armenian. Furthermore, the admixture analysis strongly supported the Western-Armenian hypothesis whilst refuting the Central Asian and Eastern-Armenian origins of Hamshenis.

Геномная вариабельность второго интрона гена серотонинового транспортера (Stin2) у мужчин африканских популяций хадза и датога.

Шибалёв Дмитрий Валерьевич

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена РАН,
Москва, Россия
dsh1978@rambler.ru*

Изучение психогенетических основ агрессивного поведения является одним из важнейших направлений современной науки. Цель данной работы - изучение полиморфизма второго интрона гена серотонинового транспортера (Stin2), предположительно ассоциированного с агрессивным поведением человека. В этом участке расположен несовершенный минисателлитный кластер содержащий от 10 до 12 повторов. В работе исследовали полиморфизм этой области у представителей традиционных африканских племенных обществ хадза (n=125) и датога (n=140), характеризующихся разным уровнем культурно допустимой агрессии. Анализ полиморфизма проводили с помощью локус-специфичной ПЦР-амплификации и фрагментного анализа полученных продуктов. В исследованных популяциях, нами был обнаружен и секвенирован новый аллель с 8 повторами. Уменьшение длины аллеля вызвано делецией D и G -повторов в 3'-области. При анализе генотипов оказалось, что гомозиготы, содержащие высоко экспрессирующий аллель, Stin2 12/12 достоверно чаще встречаются у представителей датога (0.49 и 0.58 соответственно), а генотип с низким уровнем экспрессии Stin2 10/10 у хадза (0.112 и 0.042). Эти данные показывают, что у датога чаще встречается аллель с высокой транскрипционной активностью, что говорит о

низком содержании свободного межсинаптического серотонина. Мы полагаем, что описанные выше различия в популяциях хадза и датога могут быть связаны с различным внутри- и межгрупповым допустимым уровнем агрессии. Изучение ассоциаций генетических вариантов *Stin2* с различными формами агрессивного поведения в популяциях хадза и датога является предметом нашей дальнейшей работы.

Выражаю благодарность за сотрудничество и ценные замечания к.б.н. Васильеву В. А. Работа выполнена при поддержке РГНФ (гранты №№ 08-01-00015а и 1101-00287а), ФЦП Кадры (ГК № 16.740.11.0172) и Программ Президиума РАН “Фундаментальные науки – медицине” и “Молекулярная и клеточная биология”.

Полиморфизм ISSR и IRAP маркеров у карачаевской породы лошадей.

Эркенов Тимур Алипович

РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия

erkenov_timur@yahoo.com

В связи с глобальной проблемой сокращения биоразнообразия, в том числе и сельскохозяйственных видов животных, особую актуальность приобретают задачи сохранения местных пород. Но для разработки генетически обоснованных программ по их сохранению необходимо определение условного «генофондного стандарта» пород. Для решения этой задачи одним из самых простых методов является полилокусное генотипирование («геномное сканирование») с использованием ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) и IRAP (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism)-маркеров. В настоящей работе выполнен сравнительный анализ группы лошадей карачаевской породы в сравнении с лошадьми других пород (алтайская, американская стандартбредная, орловская рысистая и русская рысистая) с целью выявления породоспецифичных генофондных особенностей. В качестве праймеров в полимеразной цепной реакции использовали участки микросателлитов (AG)₉C, (GA)₉C, (GAG)₆C и (CTC)₆C, а так же терминальные концевые фрагменты ретротранспозонов LTR SIRE-1 и PawS 5. У каждой группы исследованных лошадей были найдены фрагменты, не встречающиеся у других групп. Для карачаевской породы найден уникальный фрагмент длиной в 490 п.о. по праймеру (CTC)₆C; у алтайской породы - фрагменты длиной 980, 900 и 450 п.о. по праймеру (AG)₉C; 740 п.о. по праймеру (GA)₉C; 1180, 920 и 360 п.о. по праймеру (GAG)₆C; 1500, 1430, 1200 п.о. по праймеру (CTC)₆C. Для рысистых пород такими фрагментами ДНК были длиной в 300, 250 и 180 п.о. по праймеру (GAG)₆C. По праймерам (AG)₉C и (GA)₉C у исследованных лошадей карачаевской породы найдено наименьшее количество полиморфных локусов (28,6%), по праймеру (CTC)₆C – наибольшее (77,8%) по сравнению с лошадьми других пород. По методу Нея (1972, 1978) рассчитаны генетические расстояния между исследованными породами, на основании которых с помощью программы TFPGA построена дендрограмма. На ней рысистые породы образуют общий кластер, местные алтайская и карачаевская – отдельные ветви, что хорошо согласуется с историей формирования пород. В спектрах ISSR и IRAP маркеров обнаруживаются породоспецифичные сочетания фрагментов ДНК разной длины, которые могут быть использованы для определения «генофондного стандарта» исследованных пород.

Выражаю благодарность своему научному руководителю профессору В.И. Глазко за помощь в подготовке работы.

Распределение частоты аллелей гена MTHFR у пациентов с ИБС в казахской популяции

А. М. Айткулова, П. В. Тарлыков, А. У. Джолдасбекова

РГП «Национальный центр биотехнологии», Евразийский Национальный Университет им. Л.Н. Гумилева, Национальный научный медицинский центр, Республика Казахстан, г.Астана, akbota_aitkulova@mail.ru

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) относится к мультифакториальным сердечно-сосудистым заболеваниям, которые являются одной из основных причин смертности человека. По данным исследований выполненных на азиатских популяциях, одними из наиболее значимых генетических факторов сопряженных с повышенным риском артериального тромбоза является высокая частота встречаемости мутации в гене метилентетрагидрофолат редуктазы (MTHFR C677T).

Целью исследования являлось изучение распределения частот генотипов гена MTHFR C677T между пациентами с ИБС относящиеся к казахскому этносу и контрольной группой здоровых людей.

В исследование было включено 119 пациентов в возрасте от 34 до 75 лет (средний возраст 55 лет, мужчин/женщин–109/10), в контрольную выборку было включено 86 образцов из имеющегося в лаборатории банка ДНК здоровых людей. Выделенную из лейкоцитов крови набором Wizard Genomic DNA Purification kit (Promega) геномную ДНК амплифицировали с аллель-специфичными праймерами и последующим прямым секвенированием продуктов с помощью коммерческого набора BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. Полученные данные анализировали пакетом программ SeqScape v.2.6., достоверность различий частот генотипов определяли методом χ^2 .

Анализ полученных данных показал следующее распределение частот генотипов CC, CT и TT: 45,4% ; 47,9% ; 6,7% - в исследуемой группе и в контрольной группе - 38,4%; 54,7%; 6,9%, соответственно. Данное распределение частот как в группе пациентов с ИБС, так и в контрольной группе показывает тенденцию увеличения частоты гетерозиготного генотипа CT. Однако полученные результаты нельзя считать статистически достоверным для данной выборки ($\chi^2 = 1,0316$, $p = 0.5970$), что объясняется недостаточной величиной выборки.

Таким образом, в данном исследовании при анализе в группах сравнения нам не удалось выявить прямой зависимости исхода от выявленных полиморфизмов, и необходимы дальнейшие исследования на выборках больших размеров.

Авторы выражают благодарность за научное руководство и обсуждение результатов заведующей Национальной научной лаборатории биотехнологии коллективного пользования к.б.н. Жолдыбаевой Е. В.

Зависимость результатов геномного сканирования по ISSR-PCR маркёрам от микросателлитов, используемых в качестве праймеров

Бардуков Николай Владимирович

*РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия
bardukv-nikolajj@mail.ru*

Одним из самых простых и дешёвых методов полилокусного геномного генотипирования (геномного сканирования) является полимеразная цепная реакция (Polymerase Cycle Reaction – PCR) с использованием ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeat) маркёров. Однако до сих пор остается недостаточно исследованной зависимость оценок геномных дифференциаций, полученных с использованием ISSR-PCR маркеров, от коровых мотивов микросателлитов, используемых в PCR в качестве праймеров. В этой связи выполнен сравнительный анализ геномных распределений и полиморфизма фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами различных микросателлитов у представителей копытных и птиц. В качестве праймеров использовали участки микросателлитов: (AG)₉C, (GA)₉C, (GAG)₆C и

(СТС)₆C. В анализ были включены представители непарнокопытных (домашняя лошадь разных пород), парнокопытных (крупный рогатый скот, овцы, овцебыки) и птиц (6 дроф, 4 журавля). Обнаружено, что количество продуктов амплификации (спектры ампликонов), их полиморфизм существенно варьирует в зависимости от корового мотива микросателлита, используемого в качестве праймера. Геномная представленность инвертированных повторов каждого микросателлита (количество ампликонов в диапазоне длин от 2 тысяч пар нуклеотидов до 200 пар нуклеотидов) имеет выраженную зависимость от таксономической принадлежности животных. Суммарные оценки дифференциации по ISSR-PCR маркерам хорошо соответствуют истории формирования внутривидовых групп животных (пород domesticiрованных видов и популяций в случае интродуцированных в новые условия групп овцебыков). Найдены общие и специфичные ампликоны для пород, видов, отрядов и классов. Наибольшее количество ампликонов в спектрах ISSR-PCR маркеров было получено, в частности, у лошадей по праймеру (GAG)₆C (полиморфное информационное содержание – PIC = 0,37), у овец по праймеру (СТС)₆C (PIC = 0,40), а у овцебыков по праймеру (GA)₉C (PIC = 0,18). Полученные данные свидетельствуют о выраженной зависимости распределения инвертированных повторов рассмотренных микросателлитов от видовой принадлежности исследованных животных.

Выражаю благодарность своему научному руководителю профессору В.И. Глазко за помощь в подготовке работы.

Анализ ассоциации полиморфизма генов иммунного ответа с развитием рассеянного склероза и его клиническим течением

Баишинская Виталина Валериевна, Царева Екатерина Юрьевна

РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Медико-биологический факультет, кафедра молекулярной биологии и медицинской биотехнологии, Россия, Москва
vitalina8714@yandex.ru

Рассеянный склероз (РС) – полигенное нейродегенеративное заболевание, в патогенезе которого важную роль играет аутоиммунный воспалительный процесс. РС характеризуется выраженной клинической гетерогенностью; в частности, варьируют длительность первой ремиссии (ПР), варианты манифестации (ВМ) и другие характеристики. Целью исследования был анализ ассоциации полиморфизма генов иммунного ответа *IL7RA* (rs6897932), *CTLA4* (rs231775), *TNFRSF1A* (rs4149584 и rs1800693) и *TNF* (rs1800629) с предрасположенностью к РС и особенностями его течения у больных РС, русских по этнической принадлежности.

Анализируемую группу составили 507 больных РС; контрольную - 270 здоровых русских индивидов. Генотипирование по указанным локусам проводили методом ПЦР. Для статистического анализа использовали алгоритм APSampler.

Значимых различий в частотах встречаемости аллелей и/или генотипов между группами больных РС и здоровых контролей не найдено. Показано, что носительство аллеля *TNF*А* и генотипа *CTLA4*А/А* значимо ассоциировано ($p=0.00062$ и 0.024 , соответственно) с длительной ПР (более 1 года), а носительство генотипа *TNF*G/G* и аллеля *CTLA4*G* – с короткой ПР (не более 1 года). Выявлены сочетания аллелей и/или генотипов, более значимо, чем одиночные аллели/генотипы, ассоциированные с длительной ПР: *CTLA4*А/А + TNF*А* ($p=0.00016$) и короткой ПР: *CTLA4*G + TNFRSF1A* (rs1800693)*C ($p=0.0042$). Проведен анализ связи носительства аллелей/генотипов и их сочетаний с благоприятными ВМ РС (оптический неврит, нарушения чувствительности) в сравнении с неблагоприятными (все остальные клинические проявления дебюта). Выявлена ассоциация носительства аллелей *TNFRSF1A* (rs1800693)*Т и *TNF*А* с благоприятными ВМ ($p=0.011$ и 0.04 , соответственно), а носительства генотипов *TNFRSF1A* (rs1800693)*C/C и *TNF*G/G* - с неблагоприятными ВМ. Носительство сочетания генотипа *TNF*G/G* и аллеля *CTLA4*G* ($p=0.0096$) более значимо, чем носительство одного этого генотипа ($p=0.04$) ассоциировано с неблагоприятными ВМ.

Полученные данные указывают на связь клинической гетерогенности РС с полиморфизмом генов иммунного ответа и позволяют на основании генетического статуса прогнозировать клиническое течение РС у больного для применения адекватных методов его лечения.

Создание плазмидных и аденовирусных векторов, предназначенных для получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток

Ковлягина Ирина Сергеевна^{1,3,4}, Дементьева Е.В.^{2,3,4}

¹Новосибирский государственный университет, факультет естественных наук

²Институт цитологии и генетики СО РАН

³Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина

⁴Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия
irina.kovlyagina@yandex.ru

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК)- это новый тип стволовых клеток, которые могут быть получены из различных соматических клеток путем сверхэкспрессии ряда транскрипционных факторов. За последние годы было разработано множество методов получения ИПСК. Но, для того чтобы использовать ИПСК в качестве модели для биомедицинских, фармакологических и токсикологических исследований, а так же в регенеративной медицине, очень важны способ доставки в клетки репрограммирующих факторов. Таким образом, универсальная стратегия репрограммирования должна быть, с одной стороны, надежной и эффективной, а с другой не вызывать инсерционный мутагенез.

Цель работы – создание генетических конструкций на основе плазмид и геномов аденовирусов, экспрессирующих гены человека *OCT4*, *SOX2*, *KLF4*, *c-MYC*, *NANOG* и *LIN28*.. В ходе работы были получены полицистронные плазмиды на основе вектора pIRES и аденовирусы на основе вектора pAdEasy-1. Полученные конструкции обладают рядом преимуществ. Во-первых, полицистронность может увеличивать эффективность репрограммирования за счет повышения вероятности попадания в клетку сразу четырех необходимых генов. Во-вторых, использование не интегрирующихся векторов позволяет избежать встройки в геном экзогенной ДНК, следовательно, данный подход является безопасным. В-третьих, плазмиды содержат кДНК генов, кодирующих флуоресцентные белки ZsGreen или DsRed2, а в геномы аденовирусов встроена кДНК гена, кодирующего GFP. Флуоресцентные белки позволяют отслеживать наличие экзогенной ДНК в клетки, а также являются маркерами ее элиминации из клетки. Данные конструкции потенциально могут быть использованы для индукции плюрипотентного состояния в дифференцированных клетках.

Ассоциация полиморфных маркеров генов *IL2* и *IL2RA* с сахарным диабетом типа 1 у больных русского происхождения

Копылова Ольга Игоревна

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

okopylova7@gmail.com

Сахарный диабет (СД) типа 1 – широко распространенное, тяжело протекающее заболевание, при котором происходит полное аутоиммунное разрушение β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы. СД типа 1 относят к многофакторным, полигенным заболеваниям. Сигнальный путь, включающий интерлейкин 2 и его рецептор (IL-2 и IL-2R), исключительно важен для поддержания уровня регуляторных Т-клеток, играющих ключевую роль в развитии СД типа 1. Именно поэтому в данной работе была изучена ассоциация с СД типа 1 полиморфных маркеров *rs2069762* гена *IL2* и *rs41295061* и *rs11594656* гена *IL2RA*, кодирующих интерлейкин 2 и α -цепь рецептора интерлейкина 2, соответственно. В исследование включены группа больных сахарным диабетом типа 1 (451 человек) и группа здоровых индивидов (306 человек) русского происхождения. Определение аллелей и генотипов полиморфных маркеров проводилось методом амплификации «в реальном времени».

Определение частот аллелей полиморфных маркеров генов *IL2* и *IL2RA* показало, что, частоты аллелей изученных нами полиморфных маркеров существенно отличаются от частот аллелей этих маркеров в популяциях Западной Европы. Сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов *IL2* и *IL2RA* в группах больных СД типа 1 и здоровых индивидов не выявил статистически значимых различий, что также

существенно отличает русских больных от больных из Западной Европы, где исследованные полиморфные маркеры показывают существенную ассоциацию с СД типа 1. Таким образом, вклад генов *IL2* и *IL2RA* в формирование генетической предрасположенности к СД типа 1 существенно ниже среди русских больных в сравнении с больными СД типа 1 из Западной Европы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (государственный контракт 16.512.11.2045) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект 09-04-01443-а).

Изучение коллекции пшенично-пырейных гибридов на наличие гена *Viviparous-1* пырейного происхождения

Коротаева Алина Александровна

Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А.Тимирязева, Центр молекулярной биотехнологии, Москва, Россия

alina.korotaeva@gmail.com

Одной из проблем пшеницы, и многих других зерновых культур в зонах с достаточным увлажнением является прорастание зерна на корню. Прорастание семян начинается после завершения покоя, который ассоциируется с геном *Vp1* (*Viviparous-1*), являющимся одним из важных регуляторов позднего эмбриогенеза у мягкой пшеницы. Встраивание генноинженерной конструкции, содержащей ген *Vp1* из *Avena fatua*, в геном мягкой пшеницы привело к повышению устойчивости к прорастанию на корню. Таким образом, существуют предпосылки для увеличения устойчивости к прорастанию на корню у мягкой пшеницы за счет отдаленной гибридизации. Одним из перспективных методов интрогрессии является использование октоплоидных пшенично-пырейных гибридов (ППГ), они являются как удобным модельным объектом для изучения проявления пырейных генов в присутствии полного генома пшеницы, так и селекционным мостиком для непосредственной интрогрессии. Целью нашей работы было создание молекулярного маркера для определения присутствия гена *Vp1* пырейного происхождения и анализ коллекции ППГ с помощью данного маркера. На основе сиквенсов, полученных на предыдущих этапах исследования, нами был разработан CAPS маркер на ген *Vp1* пырейного происхождения. Он позволяет выявить два варианта гена *Vp1* пырея (*Thy1* и *Thy2*) в присутствии всех трех субгеномов мягкой пшеницы.

Коллекция ППГ из 92 образцов проанализирована при помощи ПЦР с последующей обработкой фрагментов ДНК эндонуклеазами рестрикции. У 8 образцов ППГ (548, 12, 1670, 70с, 1744, 1754зел, 1867, М3202), был выявлен ген *Thy1*. Ген *Thy2* был найден у 5 образцов (116, 237, 33, 209, 116trs). У 9 образцов (1779, 80, 186, 1754кр, 1416, 5542, 4056, 197trs, 77) наблюдалось расщепление по наличию или отсутствию данных генов. В одном из образцов выявлено расщепление по генам *Thy1* и *Thy2*. На основании полученных результатов можно провести анализ влияния генов *Vp1* пырейного происхождения на устойчивость к прорастанию на корню на ППГ и в случае проявления существенного эффекта данных генов провести их направленную интрогрессию в геном мягкой пшеницы с помощью разработанного нами молекулярного маркера.

Влияние полиморфизма гена цитокина IL-1В на развитие заболеваний желудка

Кулмамбетова Гульмира Нигметжановна¹, Иманбекова Меруерт Куатбековна¹, Сукашев Адильбек Темиржанович², Логвиненко Андрей Алексеевич², Раманкулов Ерлан Мирхайдарович¹

¹*Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан, Астана,*

²*Национальный научный медицинский центр г. Астаны, Казахстан*

gulmirakn@gmail.com

Заболевания желудка являются наиболее актуальной проблемой в медицине. 80% мирового населения страдают заболеваниями желудочно-кишечного тракта такими, как гастрит, язва, рак желудка. Причинами возникновения данных болезней могут служить

инфицирование *Helicobacter pylori* и ответная реакция организма человека на данную инфекцию. В ответ на инфекцию в организме продуцируется провоспалительный цитокин IL-1 β , уровень которого зависит от полиморфизма кодирующего его гена.

Для выявления возможной ассоциации болезней с генотипами цитокина IL-1 β было обследовано 275 человек, 136 из которых с НР-ассоциированными заболеваниями. Экстракцию ДНК из клинического материала проводили методом высаливания. В ПЦР использовали специфичные праймеры на 31-й и 511-й локусы гена IL-1 β . Определение нуклеотидных последовательностей продуктов ПЦР осуществляли с помощью автоматического генетического анализатора ABI 3730xl (Applied Biosystems, США). Для анализа данных использовали пакет программ SeqScape v.2.6.

Связи полиморфизма гена IL-1 β (С +31Т) с заболеваниями желудка у НР-инфицированных больных не обнаружено ($\chi^2 = 2,5$; $p = 0,28$). Установлена ассоциация аллеля Т ($\chi^2 = 5,6$; $p = 0,059$) полиморфного локуса -511 С > Т гена IL-1 β с гастритом желудка. Мы показали, что IL-1 β -511ТТ/ТС генотип значительно чаще встречаются у больных гастритом, чем в контроле. Лица, которые несли аллель Т в IL-1 β -511, имели высокое значение (odds ratio, 2,00) среди больных гастритом желудка. Наши данные показали, что риск развития заболеваний желудка усиливается при инфекции *H.pylori* и генотипов IL-1 β -511ТТ/СТ, что подтверждается ранее проведенными исследованиями. Известно, что хеликобактерная инфекция вызывает продукцию IL-1 β и усиливает воспалительную реакцию хозяина; тем не менее, IL-1 β , подавляет секрецию кислоты в желудке, что может способствовать колонизации *H.pylori* в корпусе слизистой оболочки желудка. Инфекция *H.pylori* и воспаление в корпусе желудка в конечном итоге может привести к атрофии и раку желудка. Данное исследование казахстанского населения показывает, что полиморфизм промотора гена IL-1 β с генотипом 511ТТ/СТ связан с развитием заболеваний желудка при инфицировании *H.pylori*.

Копии белок-кодирующих генов на В-хромосомах копытного лемминга (*Dicrostonyx torquatus*)

Макунин Алексей Игоревич

Институт Химической Биологии и Фундаментальной Медицины СО РАН, Новосибирск, Россия
alex@mcb.nsc.ru

В-хромосомы – это добавочные элементы кариотипа, встречающиеся у некоторых видов животных, растений и грибов. Эти хромосомы не являются необходимыми для нормального развития и репродукции, более того – их наличие зачастую не имеет выраженного эффекта на фенотип носителя. Число В-хромосом может варьировать на уровне популяций, индивидуумов, тканей и отдельных клеток. До недавнего времени В-хромосомы считались генетически инертными, что подтверждалось положительным С-окрашиванием и данными по обогащенности повторенными последовательностями. Однако в 2005 году на В-хромосомах хищных животных была обнаружена копия аутосомного гена *sKIT*, что перевернуло имеющиеся представления. Для подробного изучения присутствия на добавочных элементах копий аутосомных генов были созданы В-хромосомспецифичные ДНК-библиотеки разных видов млекопитающих.

При секвенировании библиотек копытного лемминга (*Dicrostonyx torquatus*) были обнаружены несколько аутосомных фрагментов, в том числе и содержащий ген *OFD1*. Методом ПЦР-картирования было предварительно показано, что регион, представленный на В-хромосомах, включает весь ген *OFD1*, а также часть прилежащего гена *TRAPPC21*. Дальнейшее исследование направлено на оценку степени амплификации этого региона методом ПЦР в реальном времени.

Примечательно, что исследованный регион локализуется на X-хромосоме у большинства позвоночных. Можно предположить, что у данного вида добавочные хромосомы образовались из половых. Обнаруженные гены обладают высокой степенью гомологии с копиями, находящимися на X-хромосоме, что поднимает вопрос об их функциональности.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ и гранта МКБ СО РАН.

Филогеография и филогенетика подвидов домашней мыши *Mus musculus*

Мальцев Алексей Николаевич

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

aleks.matcev@gmail.com

К настоящему моменту наиболее хорошо изученным таксоном является *Mus domesticus*, синантропный вид, широко расселившийся по Земному шару с человеком. Населяющий Восточную Европу и большую часть Азии другой синантропный вид *Mus musculus* исследован не столь детально. А внутривидовой структуре этого политипического вида посвящены лишь отдельные работы.

Материалом для генетического анализа были 72 особи домашних мышей, отловленных из 9 местообитаний на территории России, Молдовы, Армении и Казахстана, а также последовательности гомологичных участков контрольного региона (D-loop) мтДНК домашних мышей из Европы и Азии, хранящиеся в базе данных Genbank/NCBI.

Результаты изучения генетических дистанций показали существование двух филогенетических групп *Mus musculus*, населяющих территорию России и Ближнего Зарубежья. Первую из них составляют домашние мыши из зоны гибридизации Закавказья. Они характеризовались наибольшей генетической дивергенцией от других гаплогрупп по данным р-дистанции, высоким генным разнообразием и относительно большим количеством трансверсий. Гаплотипы домашних мышей из Еревана вместе с одним гаплотипом *M.m.musculus*, включающим большую часть последовательностей из Москвы и Московской области (7 из 9), образовали единую филогруппу, достаточно хорошо отделившуюся от других популяций *M.musculus*. Полученные нами данные подтверждают заселение Закавказья линией *M.musculus* (или предковой формой), родственной домашним мышам Восточной Европы. Во вторую филогенетическую линию вошли домашние мыши, обитающие на юге Западной Сибири (г.Ишим). Они вместе с домашними мышами из Поволжья и Алтая образовали единую филогруппу, но разделённую на две подгруппы.

Проведенный нами анализ полиморфизма мтДНК не выявил дивергенцию подвидов *M.musculus* (*M.m.musculus*, *M.m.wagneri*, *M.m.gansuensis*). Вероятно, это обусловлено гибридизацией между разными парapatрическими таксонами домашних мышей, как на видовом, так и внутривидовом уровнях. Об этом свидетельствует высокая нуклеотидная и гаплотипическая изменчивость, а также морфологические особенности домашних мышей некоторых популяций.

Работа поддержана РФФИ, грант 10-04-00214-а.

Количество копий гена *SMN2*, как диагностический критерий, определяющий тяжесть спинальной мышечной атрофии.

Маретина Марианна Александровна¹, Железнякова Г.Ю.¹, Егорова А.А.², Киселев А.В.²

¹ – Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия;

² – НИИ акушерства и гинекологии им. Отта, Санкт-Петербург, Россия

Спинальная мышечная атрофия (СМА) - аутосомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание, которое развивается в результате гомозиготной мутации в гене *SMN1* (5q13). Ген *SMN2*, центромерно ориентированная копия гена *SMN1*, способен производить 10% полноразмерной мРНК, что делает его основным геном-модификатором тяжести СМА. Было показано, что число копий гена *SMN2* коррелирует с тяжестью заболевания, поэтому определение количества копий гена *SMN2* является важным критерием при диагностике СМА. Определение числа копий гена *SMN2* было проведено с помощью метода ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Всего было исследовано 117 больных различными типами спинальной мышечной атрофии – 39 с наиболее тяжелой формой заболевания I типа, 50 с (промежуточной) формой II типа и 28 с III типом СМА, с наиболее мягким фенотипом. После ПЦР-РВ получены достоверные различия между диапазонами значений для разного числа копий гена *SMN2*. У большинства пациентов СМА I типа было обнаружено 2 копии гена *SMN2* (76,9%), у 20,5% пациентов - 3 копии гена *SMN2*, только у одного (2,6%) была обнаружена 1 копия гена *SMN2*.

Большинство пациентов со СМА II типа имеют 3 копии гена *SMN2* (78%), 12% пациентов – 4 копии гена *SMN2* и 10% – 2 копии гена *SMN2*. У 50% пациентов с III типом СМА обнаруживается 4 копии гена *SMN2*, у 46,43% пациентов - 3 копии гена *SMN2* и только у одного (3,57%) было найдено 2 копии гена *SMN2*. Анализ частот встречаемости 2, 3 и 4 копий гена *SMN2* у пациентов со СМА разных типов методом χ^2 выявил корреляцию между числом копий гена *SMN2* и тяжестью СМА. Так, при наличии 2 копий гена *SMN2* наиболее вероятно развитие СМА I типа, в случае присутствия 3 копий - СМА II типа, а при 4 копиях гена *SMN2* развитие СМА III типа. Таким образом, число копий гена *SMN2* следует учитывать при раннем прогнозе развития заболевания.

Полиморфизм +294Т/С гена *PPARD* и индекс массы тела

Насибулина Э.С., Архипова А.А., Борисова А.В

Казанский государственный медицинский университет, Казань

jastspring@yandex.ru

Рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом (PPAR), являются лигандсвязывающими транскрипционными факторами, принадлежащими к семейству ядерных рецепторов. На данный момент известно 3 вида белков семейства PPAR: PPAR α , PPAR γ и PPAR δ . Эти транскрипционные факторы регулируют экспрессию нескольких десятков генов, главным образом включенных в обмен жиров и углеводов. δ -Рецептор, активируемый пролифераторами пероксисом (PPAR δ) выполняет функции по регуляции генов, вовлеченных в окисление жирных кислот, обмен холестерина, термогенез, эмбриогенез, регенеративные и воспалительные процессы и канцерогенез. Наиболее пристальное внимание обращает на себя +294Т/С полиморфизм нетранслируемой части 4-го экзона (rs2016520 Т/С) гена *PPARD*. Обнаружено, что транскрипционная активность мутантного *PPARD* С аллеля на 39% выше, чем у Т аллеля.

У носителей *PPARD* С аллеля выявлено незначительное увеличение поглощения мышцами глюкозы, пониженный индекс массы тела (ИМТ), низкое содержание подкожного жира и преобладание медленных мышечных волокон в латеральной головке четырехглавой мышцы бедра. На основании данных о высокой транскрипционной активности С аллеля можно предположить, что носительство С аллеля способствует большему катаболизму жиров и в некоторой степени снижает риск развития ожирения.

Целью данного исследования явилось в выявлении ассоциации +294Т/С полиморфизма гена *PPARD* с индексом массы тела.

В исследовании приняли участие 316 человек (студенты г. Казани). Полиморфизм +294Т/С гена *PPARD* определяли методом ПЦР с использованием двухпраймерной системы, последующей рестрикцией с использованием фермента Bsc4 I и анализом длин рестрикционных продуктов.

В результате проведенного анализа статистически значимой ассоциации между *PPARD* С аллелем и ИМТ выявлено не было как среди мужчин (n=94) ($r=0.03122$, $p=0.5803$), так и среди женщин (n=222) ($r=0.06671$, $p=0.3224$). Поскольку студенты в силу своего статуса являются активной социальной группой, можно предположить, что активный образ жизни выступил как фактор, модифицирующий влияние +294Т/С полиморфизма гена *PPARD* на массу тела. Таким образом, полиморфизм гена *PPARD* не ассоциируется с индексом массы тела у студентов.

Структура генофонда партеногенетического вида кавказских скальных ящериц

Darevskia unisexualis

Омельченко Андрей Владимирович, Вергун Андрей Александрович

Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия

omi@bk.ru

Изучение генетико-популяционных процессов у облигатно-партеногенетического вида ящериц *D.unisexualis* актуально как в экологическом (т.к. динамика генетического вклада отдельных популяций в генофонд вида может быть взаимосвязана с эколого-демографическими

показателями популяции, которые маркируют экологическое состояние и антропогенную нагрузку на территории ареала вида), так и в молекулярно-генетическом аспектах – отсутствие генетической рекомбинации при размножении, наблюдаемое у партеновидов рода *Darevskia*, демаскирует другие механизмы изменчивости генома, общие и трудно изучаемые у многих двуполовых позвоночных.

Вклад в генофонд видов анализировался с использованием модели [1] на основании встречаемости 38 аллельных вариантов 4 полиморфных микросателлитных локусов геномов *D.unisexuality* (65 особей из 5 популяций). В качестве параметра генетического разнообразия популяций вычислялась гетерозиготность (наблюдаемая и ожидаемая), которая определялась по формуле Нея.

Вклад в генофонд распределен следующим образом: (Такярлу = 18,52%(±0,6)) < (Кутчак = 19,39%(±0,2)) < (Лчап = 20,70%(±0,2)) = (Загалу = 20,70%(±0,2)) = (Норатус = 20,70%(±0,5)), ($p \ll 0,0005$). Таким образом, можно сказать, что наибольший вклад в генофонд вносят популяции наименее изменчивые и наиболее генетически стабильные – популяции Лчап, Загалу и Норатус (наблюдаемая гетерозиготность по 0,5 (±0,001), $p \ll 0,0005$). В свою очередь, популяции партеногенетических видов, населяющие высокогорные районы демонстрируют высокий уровень генетического разнообразия и низкий уровень генетического вклада, вероятнее всего, обусловленный небольшой численностью особей этих популяций.

Исследование поддержано грантом Президента РФ МК-2697.2011.4.

Омельченко А.В., Корчагин В.И., Севастьянова Г.А., Рысков А.П., Токарская О.Н. Молекулярно-генетическая характеристика микросателлитных динуклеотидных локусов у партеногенетических ящериц *Darevskia unisexuality* // Генетика, 2009, том 45, №2, с. 230-238.

Полиморфизм участка гена Cyt b мтДНК русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) и стерляди (*Acipenser ruthenus*)

Резникова-Галашевич Ирина Сергеевна, Шелев А. В.

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев, Украина
iren.reznikova@gmail.com*

Осетровые рыбы — национальное богатство многих стран мира. В настоящее время основная часть мировых запасов осетровых рыб (более 90 %) сосредоточена в бассейне Каспийского моря, так как осетровые Азово-Черноморского бассейна, в виде природных популяций, существуют условно, поскольку они утратили возможность естественного размножения и восстановление популяция осуществляется искусственным воспроизводством на рыбозаводных заводах. Популяции осетровых рыб характеризуются сложной генеалогической структурой, требующей изучения на популяционно-генетическом уровне, с применением как геномных, так и митохондриальных ДНК-маркеров.

Анализ генетической структуры популяций русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*, Brandt 1833) Азово-Черноморского бассейна и стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus 1758) ОАО «Донрыбкомбинат» проводили путем амплификации участка гена Cyt b мтДНК с помощью полимеразной цепной реакции, с последующим секвенированием.

В результате проведенной работы выявлено, что популяция русского осетра представлена семью гаплотипами, два из них относятся к *A. gueldenstaedtii*, три – к *A. g. colchicus*, один – к *A. g. gueldenstaedtii*, который считается аборигенным видом Каспийского моря. Седьмой гаплотип русского осетра выявлен нами впервые (GenBank NCBI JN698961). Популяция стерляди представлена шестью гаплотипами, два из которых выявлены нами впервые (GenBank NCBI JQ033713, JQ033714). Также выявлено, что для представителей данной популяции характерна гетероплазмия.

Полученные гаплотипы русского осетра и стерляди можно использовать, как перспективные молекулярно-генетические маркеры в популяционно-генетических исследованиях осетровых рыб.

Авторы выражая благодарность научному консультанту Спиридонову В.Г. за помощь и советы, оказанные в ходе выполнения работы.

Мейотический мутант *su9* ржи *Secale cereale* L.: короткие фрагменты синаптонемных комплексов обеспечивают образование единичных хиазм

Симановский Сергей Анатольевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им.

Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

ssimanovskiy@yahoo.com

Мутация *su9* является классической мейотической мутацией ржи с асинаптическим фенотипом. На сегодняшний день для этой мутации не разрешена существенная проблема несоответствия цитологических картин в профазе I и метафазе I (MI) мейоза. В MI у мутантов *su9* примерно в 70% мейоцитов наблюдаются только униваленты. Но в оставшихся 30% стабильно встречаются единичные биваленты. В профазе I таких растений должны присутствовать хотя бы короткие участки синаптонемных комплексов (СК), которые необходимы для образования хиазм. Однако в ранних исследованиях даже короткие фрагменты СК у мутантов *su9* не были обнаружены, и цитологический фенотип мутации был классифицирован как полностью асинаптический. Задача нашего исследования – методами электронной микроскопии и иммуноцитохимии осуществить поиск фрагментов СК в мейоцитах мутантов *su9*.

Электронно-микроскопический анализ СК подтвердил, что наличие унивалентом в MI обусловлено сильным асинапсисом хромосом в профазе I. СК, которые соединяли бы гомологичные хромосомы по всей их длине, отсутствуют. Вместо них присутствуют осевые элементы (ОЭ) неспаренных гомологов. Почти во всех клетках обнаруживались картины выравнивания и сближения ОЭ, что всегда предшествует непосредственному спариванию хромосом и образованию СК. При более подробном рассмотрении таких картин нам удалось найти спаренные участки, которые по своей морфологии соответствовали СК. При иммуноцитохимическом выявлении белка латеральных элементов СК арабидопсиса *Asy1* были получены схожие результаты - на фоне общего асинаптического фенотипа обнаруживались короткие спаренные участки. Важная особенность мутации - хромосомные оси окрашиваются тускло, часто наблюдаются протяжённые непрокрашенные участки, бреши.

В результате исследования мы впервые показали, что в мейоцитах мутантов *su9* присутствуют короткие фрагменты СК. Это свидетельствует о наличии редких событий синапсиса в профазе I, которые, в свою очередь, обеспечивают образование единичных хиазм. Наше заключение согласовывает картины мейоза в профазе I и метафазе I у мутантов *su9* и существенно дополняет цитологический фенотип мутации.

Полиморфизм генов классических пероксидаз в растениях *Arabidopsis thaliana* из природных северных популяций

Солтабаева Айгерим Даулетбеккызы, Куприянова Евгения Владимировна

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва

асуа.87@mail.ru

Классические пероксидазы растений участвуют в защите растений от действия стрессовых факторов и патогенов, процессах лигнификации и суберинизации клеточных стенок и катаболизма ауксина. В геномах растений найдены десятки генов классических пероксидаз, в том числе у *A.thaliana* - 73 гена. Как правило, представительные семейства генов характеризуются высоким уровнем генетического полиморфизма и являются удобными моделями для изучения эволюции геномов.

Нами был проведен анализ спектра изоформ пероксидазы и выявлен высокий уровень полиморфизма между растениями природных популяций Карелии. Для подтверждения выявленного полиморфизма изоформ пероксидазы на генетическом уровне, проведен анализ геномных последовательностей 6-ти генов пероксидаз у растений из 6-ти карельских популяций. Гены анионных пероксидаз *AtPrx53* и *AtPrx54* - tandemно дублированные паралоги, локализованные в 5-ой хромосоме. Гены *AtPrx52* и *AtPrx55* расположены в той же хромосоме и кодируют катионную и анионную пероксидазу, соответственно. Гены катионных

пероксидаз *AtPrx56* и *AtPrx27*- паралоги, расположенные в разных хромосомах (5-ой и 3-ей, соответственно). Во всех генах нами выявлены однонуклеотидные замены (SNP) и делеции/инсерции, отличающие популяции. Полиморфные сайты выявлены как в интронах, так и в экзонах. Часть из них вызывает полиморфизм аминокислотной последовательности. Эти данные подтверждают результаты анализа изоферментного полиморфизма, показавшего существенные различия между природными северными популяциями *A.thaliana*.

Ранее, при изучении полиморфизма гена *AtPrx53* в европейских, азиатских и американских расах нами выявлены два гаплотипа этого гена и показана ассоциация между гаплотипом и особенностями онтогенеза растений. Все расы, имеющие гаплотип Col имели более протяженный жизненный цикл и более позднее время зацветания по сравнению с расами, имеющими гаплотип Dijon. В растениях карельских популяций обнаружены те же закономерности: популяция Царевичи, зацветающая раньше остальных, имела гаплотип Dijon по гену *AtPrx53*.

Исследования выполнены при поддержке грантов РФФИ-а (№ 11-04-01306-а) и Научные школы (№ 376.2012.4)

Молекулярно-филогенетический анализ и штрихкодирование видов стихеевых рыб (Perciformes: Stichaeidae) дальнего востока России на основе данных об изменчивости гена *Co-1*.

Туранов Сергей Викторович

Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского, Дальневосточное отделение Российской академии наук, Россия, Владивосток
sturcoal@mail.ru

Представители семейства Stichaeidae наряду с Pholidae и Zoarcidae входят в состав подотряда бельдюговидных рыб (Zoarcoidei), представляя собой одну из наиболее обособленных в северной части Тихого океана таксономических групп. обстоятельная ревизия семейства, выполненная В.М. Макушковым, позволила выявить основные типы морфологической специализации семейства, а также подготовила почву для более совершенных методов исследования. К настоящему времени с привлечением молекулярных данных усилиями зарубежных и российских учёных были разрешены некоторые спорные вопросы филогении семейства, но характер взаимоотношений организмов на видовом и родовом уровнях остался неясным. Для прояснения филогенетических взаимоотношений внутри семейства было проанализировано 95 последовательностей митохондриального гена *Co-1* от 36 видов рыб из дальневосточных морей. В ходе филогенетического анализа были получены ограниченные данные о филогении семейства. В частности, подтверждена филогенетическая обособленность подсемейства Opisthocentrinae, а также валидность рода Pholidapus в его составе. Доли различающихся нуклеотидов (*p*-расстояния) в сравниваемых последовательностях достоверно увеличиваются по мере возрастания таксономической иерархии. Значение внутривидового разнообразия для исследованного семейства - 0.15 ± 0.06 , в то время как уровень дивергенции между разными видами одного рода - 6.33 ± 0.37 . Существенные различия между этими двумя значениями позволили безошибочно идентифицировать представителей исследованной группы с помощью молекулярного штрихкода - гена *Co-1*.

Нокаутирование гена *htrA* в клетках *Bacillus subtilis*

Шарафутдинов Иршад Султанович

Казанский (Приволжский) федеральный университет, биолого-почвенный факультет, Казань, Россия
irwad@yandex.ru

HtrA – протеиназа семейства сериновых протеаз. Она широко распространена как в одноклеточных, так и в многоклеточных организмах. Основной функцией представителей семейства HtrA является белковый качественный контроль и удаление денатурированных и

несфолдированных белков. В отличие от других протеаз белкового качественного контроля, протеиназы HtrA могут проявлять так же функции шаперонов, стабилизируя дефектные белки. Целью работы являлось нокаутирование гена *htrA* в клетках *B.subtilis* 168.

Была получена конструкция ДНК для нокаутирования гена *htrA*, путем гомологичной рекомбинации. Она включает ген устойчивости к эритромицину, фланкированный фрагментами ДНК размером 1 кб, гомологичными к последовательностям слева и справа от гена *htrA*. Ген устойчивости к эритромицину синтезировали с плазмиды pCB22, левый и правый фрагменты – с геномной ДНК *B.subtilis* 168. Всю конструкцию получали с помощью метода LFH-PCR. Полученный в результате фрагмент размером 3.0 кб очищали из геля и лигировали в вектор pJET1.2 (Fermentas) с образованием плазмиды pJET-htrA. Для проведения нокаутирования гена в клетках бацилл, плазмиду pJET-htrA рестрицировали по сайту HindIII. Полученной линейной молекулой ДНК трансформировали клетки *B. subtilis* 168. Чтобы проверить, несут ли отобранные колонии нокаут мутацию гена *htrA*, из 15 случайных клонов, а также исходного штамма *B. subtilis* 168, выделяли геномную ДНК, и проводили ПЦР, используя праймеры Left up и Right low, комплементарные к 5' и 3' участкам гена *htrA B.subtilis*. Ожидаемый размер продукта полимеризации в случае исходного штамма составлял 3,3 кб, в случае мутантных штаммов – 3.0 кб. Результаты анализа подтвердили нокаутирование гена *htrA* в проанализированных клонах.

Выражаю огромную благодарность Федоровой К.П. и Каюмову А.Р. за поддержку и помощь в реализации работы.

Популяционно-генетическая дифференциация сахалинского тайменя *Parahucho perryi* В. по микросателлитным маркерам ДНК

Юрченко Андрей Александрович, Шитова Марина Владимировна

Институт Общей Генетики им. Вавилова РАН, Россия, г. Москва

andreyurch@gmail.com

Сахалинский таймень *Parahucho perryi* (Brevoort, 1856) – узкоареальный, эндемичный вид Дальнего Востока, занесенный в красную книгу РФ и Международный Красный Лист. За несколько последних десятилетий численность тайменя резко снизилась и продолжает снижаться под воздействием браконьерского вылова. Для создания современной природоохранной стратегии вида необходимо знание его популяционно-генетической структуры.

По разрешениям Министерства Природных Ресурсов РФ, мы собрали генетические пробы тайменя (кусочек плавника) на большей части ареала в 2009-2011 годах. Для данной работы были изучены 16 выборок сахалинского тайменя по 17 микросателлитным маркерам ДНК. Наши предварительные результаты (за исключением юга Сахалина и Приморья) показывают наличие генетически обособленных групп популяций, приуроченных к отдельным экорегионам (Северо-Восточное, Западное побережье острова Сахалин, юг Хабаровского края), либо бассейнам крупных рек (р. Поронай). Значения Fst внутри групп колеблются от 2% до 6%, между группами на уровне 15-20%. В пределах бассейна реки Поронай наблюдается значительный уровень дифференциации между отдельными притоками, в то время как между выборками из двух крупных рек Хабаровского края (Тумнин и Коппи) статистически достоверной дифференциации обнаружено не было.

Работа выполнена за счет средств договора с АНО «Сахалинская Лососевая Инициатива» и гранта Президиума РАН «Молекулярная и Клеточная Биология» под руководством д.б.н. Животовского Л.А.